Über gegenseitige Beziehungen der chemischen Konstitution, der Adsorptionsfähigkeit und der antimikroben Wirkung organischer Verbindungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde,
genehmigt von der Hohen Philosophischen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Hans Schmerl
Charlottenburg

Tag der Prüfung: 18. Februar 1932
Tag der Promotion: 31. Mai 1933

Jena 1933

Universitäts-Buchdruckerei G. Neuenhahn, G.m.b.H., Jena

373

Referenten:

Professor Dr. Th. Sabalitschka
Professor Dr. C. Mannich

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Unter den verschiedenen physikalischen Eigenschaften chemischer Stoffe, für welche man eine Beziehung zu ihrer biologischen Wirkung annimmt, nennen sowohl J. Traube wie auch Th. Sabalitschka die Adsorptionsfähigkeit der Stoffe an den Zellen des Organismus. Während der erstere Forscher dabei die Wirkung der chemischen Stoffe auf den mehrzelligen Organismus berücksichtigt und so besonders die narkotische Wirkung chemischer Stoffe durch Adsorptionsvorgänge erklärt [1]), befaßt sich Th. Sabalitschka mit der Giftwirkung chemischer Stoffe auf einzellige Organismen [2]). Dies regte an, die Berechtigung der Hypothese von der Abhängigkeit der antimikroben Wirkung chemischer Stoffe von ihrer Adsorptionsfähigkeit nachzuprüfen.

Es ist dabei vorauszuschicken, daß wir über die Vorgänge der Adsorption an den verschiedenen Grenzflächen selbst noch nicht genügend im klaren sind, wenn auch manche Ergebnisse auf diesem Forschungsgebiet in der Praxis verwertbar sind. Es ist auch noch nicht erwiesen, ob es für die Adsorptionsvorgänge allgemein geltende Gesetze überhaupt gibt, es hat indes heute den Anschein, daß sich verschiedene Hypothesen und davon abgeleitete Gesetzmäßigkeiten bei der Erklärung eines beobachteten Adsorptionsvorganges heranziehen lassen. Von den bisher für die Adsorption, insbesondere für die Adsorption der hier zu beobachtenden Grenzflächen fest/flüssig gegebenen Theorien seien die wichtigsten angegeben.

Die älteste Theorie stammt von Gibbs [3]). Von thermodynamischen Überlegungen ausgehend zeigte er, daß in einem System fester Stoff/Lösung diejenigen Körper adsorbiert werden müssen, die die Oberflächenspannung der Lösung herabsetzen. Weitergehend konnte er auch eine Formel für die Größe der Adsorption entwickeln, die mit der später von Freundlich empirisch gefundenen Adsorptionsisotherme im Einklang steht. In vielen Versuchen konnte eine Parallelität zwischen der Erniedrigung der Oberflächenspannung durch ein Adsorptiv und seiner Aufnahme am Adsorbens gefunden werden. Im Gegensatz zu Gibbs, der die Adsorptionsvorgänge allein mit Hilfe der Oberflächenspannung erklären zu können glaubt, nehmen Polanyi [4]), Haber [5]) und Langmuir [6]) eine unmittelbare Anziehung der Moleküle des gelösten Stoffes durch das Adsorbens an. Sie erklären dies damit,

daß in jedem Adsorbens die gegenseitigen Anziehungskräfte der Atome an der Oberfläche nicht voll abgesättigt werden können und daß daher dort Restvalenzen frei werden, die die Anziehung des Adsorptivs bedingen. Verschieden sind die Ansichten, aus wieviel Molekellagen sich die Oberflächenschicht zusammensetzt. Während Polanyi glaubt, daß mehrere Schichten vorhanden seien, nimmt Langmuir an, daß wir nur mit einer Molekellage zu rechnen haben.

Außer diesen wichtigsten Theorien gibt es noch einige Erklärungen, die elektrische Gesetze als Grundlage ihrer Betrachtung gewählt haben [7]).

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. Th. Sabalitschka sollte die Adsorption einer Anzahl organischer Stoffe, insbesondere von bekannten Antiseptika, sowohl am Einzeller wie auch an reinem Wollstoff, ferner die schädigende Wirkung dieser Stoffe auf den gleichen Einzeller studiert und nach Beziehungen zwischen den dabei erhaltenen Ergebnissen gesucht werden. Da die Einzeller durch die Einwirkung der Adsorptive, also während der Adsorptionsversuche abgetötet werden und damit Veränderungen der Adsorptionsbedingungen eintreten konnten, waren auch vergleichende Adsorptionsversuche mit Hefe auszuführen, die durch verschiedene Vorbehandlung mehr oder weniger abgetötet war.

Die Untersuchung umfaßt somit folgende Abschnitte:

1. Adsorption an frischer Hefe.
2. Adsorption an verschieden vorbehandelter Hefe.
3. Einfluß der Adsorptive auf das Vermehrungsvermögen der Hefe.
4. Einfluß der Adsorptive auf die Gärfähigkeit der Hefe.
5. Adsorption an Wolle.

I.

Zu allen meinen Versuchen benutzte ich als Einzeller obergärige Brennereihefe Rasse M des Instituts für Gärungsgewerbe, Berlin. Leider vermißt man in der Literatur häufig genauere Angaben über den angewandten Organismus, und daher ist es auch nicht erstaunlich, daß manchmal mehrere Forscher bei Versuchen mit denselben Adsorptiven doch verschiedene Resultate erhielten. Von den vorhandenen Arbeiten über Aufnahme anorganischer und organischer Stoffe durch Hefe und Bakterien möchte ich vor allem die Bestimmungen von Herzog und Betzel [8]) erwähnen. Diese fanden für $AgNO_3$, $HgCl_2$ und $CHCl_3$ Adsorptionskurven, die der Freundlichschen Adsorptionsisotherme entsprachen, wäh-

rend von H · COH stets eine konstante Menge unabhängig von der Konzentration gebunden wurde. Bei Versuchen mit Phenol ergab sich, „... daß auch hier bei den Lösungen, die schwächer als 1% sind, die Adsorptionsformel angewandt werden kann".

Zur Ausführung meiner Untersuchungen konnten mir diese Angaben allerdings nur indirekt nützen, indem sie die Adsorptionsfähigkeit der Hefe bewiesen. Immerhin war damit schon gezeigt, daß das Ergebnis meiner Versuche von der Auswahl der Adsorptive abhängig war. Bei der Entscheidung, mit welchen Stoffen die Versuche angesetzt werden sollten, waren vor allem solche von bekannter antiseptischer Wirkung heranzuziehen. Zu allererst war natürlich festzustellen, ob die zu verwendenden Stoffe überhaupt von der Hefe in einem Maße gebunden werden, daß sie für die beabsichtigten Versuche brauchbar waren. Diese Bindung mußte aber durchaus nicht als echte Adsorption geschehen. Für Salizyl- und Benzoesäure war eine gute Bindungsfähigkeit an Einzeller durch die Angaben von J. Traube[9]) und Th. Sabalitschka[10]) von vornherein nahegelegt. Auch die aliphatischen einwertigen Säuren zeigten bei meinen Vorversuchen eine gute Bindungsfähigkeit.

Sodann wurde durch Reihenversuche mit ansteigender Konzentration festgestellt, ob die Aufnahme dieser Säuren durch die Hefe als Verteilung, Adsorption oder nach unbekannten Gesetzen stattfand. Die Grundlage für diese Entscheidung bildeten der Nernstsche Verteilungssatz[11]) und die Gleichung der Freundlichschen Adsorptionsisotherme[12]): $a = \alpha\, c^{1/n}$. In der letzten Gleichung bedeuten a die adsorbierte Menge in Millimol pro Gramm Adsorbens, c die Gleichgewichtskonzentration in Mol pro Liter, α den Adsorptionswert und 1/n den Adsorptionsexponenten. Man erkennt sofort, daß die Verteilung nur als Grenzfall der Adsorption für den Fall $1/n = 1$ anzusehen ist. Daher wird auch die Entscheidung, ob die Adsorption oder Verteilung vorliegt, nach dem Bild der a, c-Kurve schwierig, wenn der Adsorptionsexponent sich dem Wert 1 stark nähert. Eine andere Schwierigkeit bei der Beurteilung derselben Frage kann entsprechend der Form der Adsorptionsisotherme dadurch entstehen, daß man die Differenz der Ausgangskonzentrationen der zu untersuchenden Lösungen zu gering gewählt hat. Einen sicheren Schluß kann man nur ziehen, wenn man die Gleichung der Adsorptionsisotherme logarithmiert. Man erhält so: $\log a = 1/n \log c + \log \alpha$. Wählt man nun log a und log c als Koordinaten, so ergibt diese Gleichung in graphischer Darstellung eine Gerade mit 1/n als Tangens des Neigungswinkels. Auf die Bedeutung von α und 1/n, die im allgemeinen bei Adsorptionsmessungen angegeben werden, möchte ich noch näher ein-

gehen. 1/n, der Adsorptionsexponent, gibt entsprechend seiner Ableitung $\frac{d \log a}{d \log c} = 1/n$ Aufschluß über das Steigen der logarithmischen und damit auch der a, c-Kurve, α, der Adsorptionswert, gestattet uns einen Vergleich der Adsorption der verschiedenen Stoffe, aber nur für die Gleichgewichtskonzentration $c = 1$. Denn in allen anderen Konzentrationen ist die Adsorption noch von dem Wert 1/n abhängig. In diesen Fällen ist ein Vergleich nur durch die Kurvenbilder möglich. Zur Bestimmung des Wertes von α haben wir zwei Berechnungsmöglichkeiten:

1. nach der Formel $\alpha = a : c^{1/n}$,
2. aus der logarithmischen Kurve, deren Ordinate für den Wert $\log c = 0{,}0000$ gleich $\log \alpha$ ist.

Bei der Berechnung der Werte von α fand ich ein weiteres Kriterium zur Unterscheidung einer Verteilungs- von einer Adsorptionskurve. Ermittelt man die α-Werte einer Adsorptionskurve, wobei die Gleichgewichtskonzentrationen in gleichmäßiger Reihenfolge eingesetzt werden, so erhält man Größen, die beständig um einen Mittelwert schwanken. Dasselbe kann man bei der Berechnung der α-Werte einer Verteilungsgeraden feststellen (in diesem Fall setzen wir $1/n = 1$). Entsprechen aber die a- und c-Werte, die man irrtümlicherweise für Punkte einer Verteilungsgeraden gehalten hatte, in Wirklichkeit einer Adsorptionsisotherme, so tritt bei der Berechnung von α das Schwanken um einen Mittelwert nicht ein. In diesem Falle wachsen die α-Werte beständig, wenn man c in abnehmender Reihenfolge einsetzt.

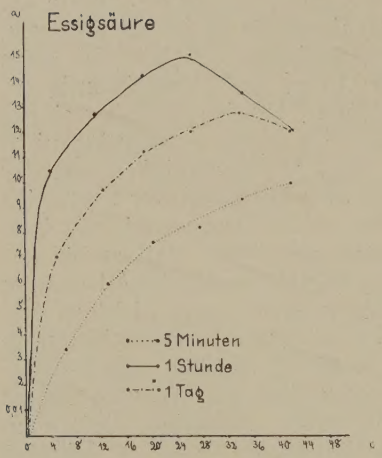
Zur Anwendbarkeit der Freundlichschen Gleichung möchte ich noch bemerken, daß sie, wie Freundlich hervorhebt [13]), nur für verdünnte Lösungen gilt. „Verdünnt" ist dabei nicht zahlenmäßig festgelegt, sondern für jeden Stoff abhängig von dem Werte der Maximumkonzentration der Adsorption. Freundlich empfiehlt, die Ausgangskonzentration so zu wählen, daß nach der Adsorption eine Abnahme von 30—60 % eintritt. Da die Gleichung empirisch gefunden wurde, genügen ihr auch nicht alle von Freundlich [14]) vorgenommenen Messungen vollkommen. Einige log a, log c-Kurven zeigen vielmehr eine geringe Neigung zur log c-Achse. Dasselbe konnte ich auch bei meinen Messungen feststellen, bei denen ich oft in der schwächsten Konzentration, bei der allerdings auch häufig eine stärkere als 60prozentige Abnahme nach der Adsorption eintrat, Werte für a und c fand, die einen etwas zu tief liegenden Punkt für die Adsorptionsisotherme angaben. Größere Abweichungen, wie sie Gurwitsch [15]), Marc [16]) und andere angeben, glaubt Freundlich [17]) dadurch erklären zu können, daß hier

zum Teil nicht mit verdünnten Lösungen gearbeitet wurde, zum Teil aber auch nicht nur Adsorption vorlag.

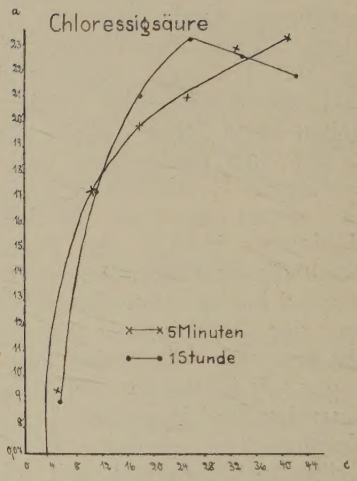
Mit dieser Möglichkeit, daß bei der Benutzung von Hefe an Stelle von Kohle nicht nur Adsorption eintreten würde, mußte ich auch rechnen. Es war notwendig, die Resultate zu berücksichtigen, die das bisherige Studium der physikalischen Chemie der Zelle und insbesondere der Wirkung von Giften und Desinfizientia ergeben hatte. Ohne auf die verschiedenen Theorien [18]) näher einzugehen, darf man sagen, daß sie alle eine bloße Adsorption nicht annehmen [19]). Es hat sich vielmehr stets in Abhängigkeit von der Zeit neben oder nach der Adsorption eine Diffusion der Stoffe ins Zellinnere infolge der Permeabilität der Plasmawand ergeben. Nach diesen Feststellungen durfte man annehmen, daß es bei genügend kurzer Versuchsdauer doch gelingen könnte, die Adsorption von der Diffusion zu trennen. Dabei brauchte man nicht zu befürchten, die Adsorption nur teilweise zu erfassen. Denn Versuche sogar mit kolloiden Adsorptiven an Kohle [20]) ergaben eine Einstellung des Gleichgewichts in einigen Sekunden oder Minuten. Meine Vermutungen wurden durch die Versuche bestätigt. Bei allen Reihenbestimmungen mit einer Schütteldauer von 5 Minuten wurde, falls überhaupt Adsorption eintrat, diese gefunden. Es kam dabei allerdings darauf an, einen experimentellen Kunstgriff anzuwenden. Die ersten Versuche mit dieser Schütteldauer ergaben eine Kurve, die vollkommen unverständlich war. Bei einer so kurzen Schütteldauer konnte die Hefe noch keine gleichmäßige Suspension bilden. Ließ ich bei diesen Bestimmungen aber immer ein Anschütteln mit Wasser vorangehen, bevor ich die Adsorptivlösung hinzugab, so erhielt ich dann bei nur fünf Minuten dauerndem Schütteln eine Adsorptionsisotherme, die vollkommen der Freundlichschen Gleichung genügte. Alle Säuren mit Ausnahme der Capronsäure zeigten Adsorption. Letztere ergab eine Verteilungskurve. Ich gebe nun die Werte für α und 1/n nach fünf Minuten Schütteldauer an, ferner die für die verschiedenen Versuchsreihen gefundenen a, c- bzw. log a, log c-Kurven (Bild 1—12).

Tabelle I.

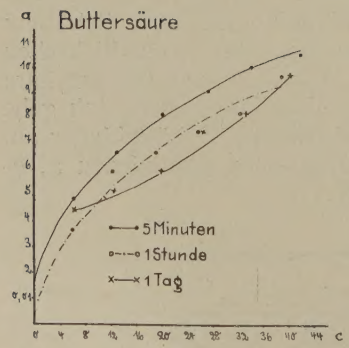
	α	1/n
Salizylsäure	0,0821	0,75
o-Chlorbenzoesäure . . .	0,0561	0,62
Benzoesäure	0,0283	0,50
Essigsäure	0,0206	0,42
Chloressigsäure	0,1000	0,23
Buttersäure	0,0228	0,42
(Capronsäure	0,0046	1,00)



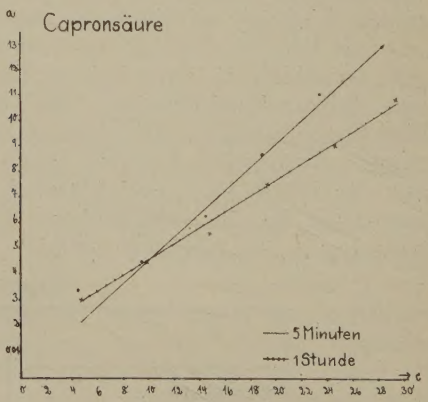
Tafel 1



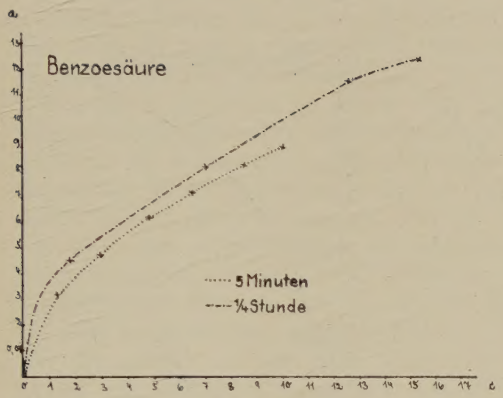
Tafel 2



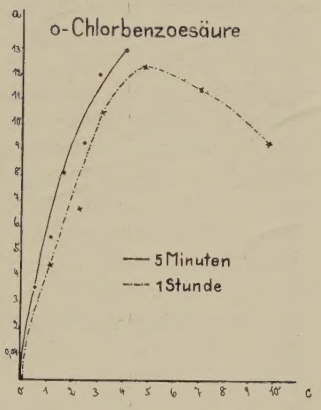
Tafel 3



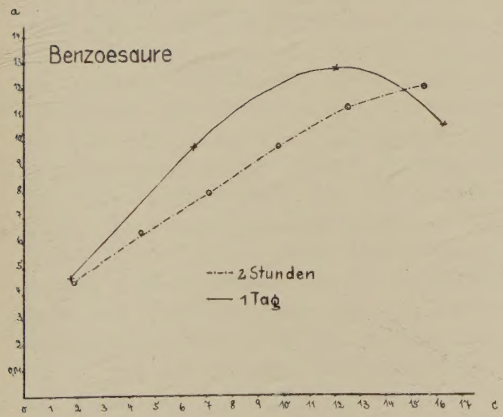
Tafel 4



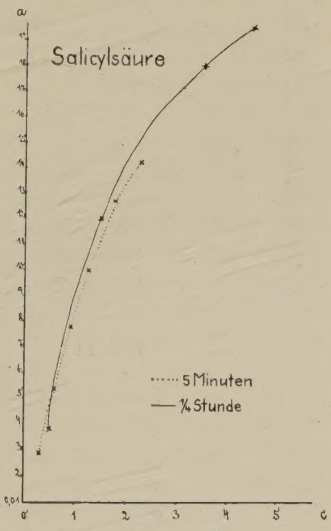
Tafel 5



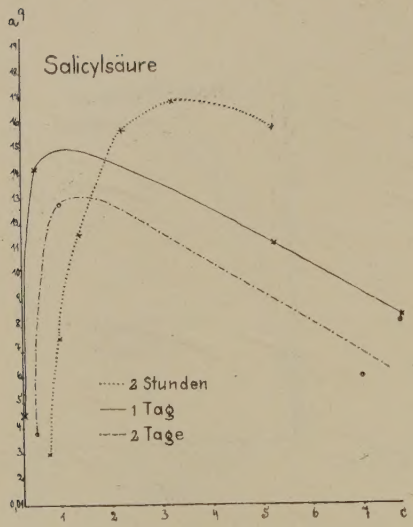
Tafel 7



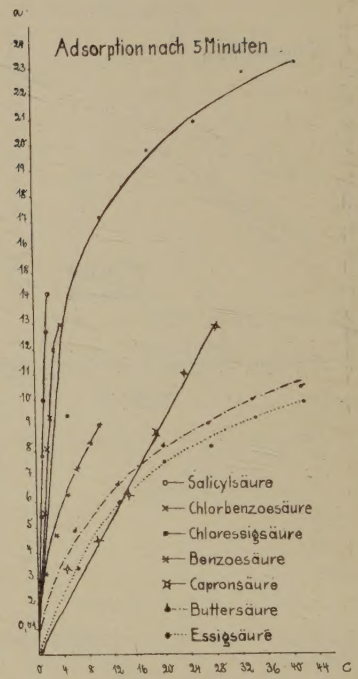
Tafel 6



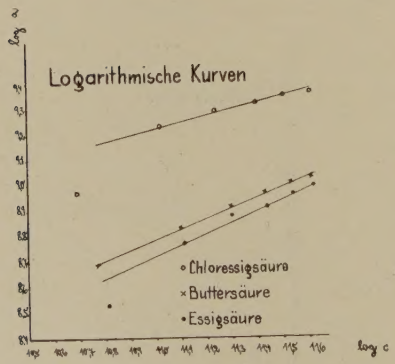
Tafel 8



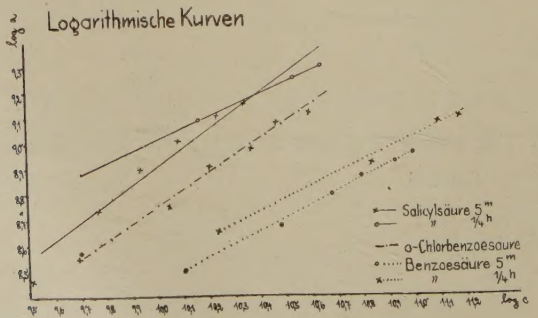
Tafel 9



Tafel 10



Tafel 11



Tafel 12

Bei der Berechnung von α ist in Übereinstimmung mit der Größenordnung der ausgeführten Versuche $c = 1$ Millimol gesetzt.

Bei Betrachtung des die Adsorption innerhalb 5 Minuten betreffenden Bildes 10 ist am auffälligsten, daß die Chloressigsäure hier erst an dritter Stelle steht, obwohl der oben angegebene α-Wert der höchste ist, nämlich 0,1. Wollte man die Stoffe nach ihren α-Werten vergleichen, so würde man nun zur Salizylsäure kommen. Dies erscheint mir aber unzweckmäßig, da es zwar möglich ist, alle α-Werte zu bestimmen, aber nicht, die Adsorption aller Säuren in denselben höheren Konzentrationen zu messen. Richtiger dürfte es sein, bei der Besprechung die schwer löslichen aromatischen Säuren von den aliphatischen zu trennen. Vergleicht man zunächst beide Gruppen im ganzen miteinander, so sieht man, daß bei den aliphatischen Säuren sich die Kurven überschneiden, während dies bei den aromatischen nicht vorkommt. Dies läßt sich aus den Werten für α und 1/n erkennen, auch ohne das Kurvenbild zu sehen. Wenn mit wachsendem α auch 1/n beständig größer wird, wie es bei den aromatischen Säuren der Fall ist, können sich die Kurven nicht überschneiden. Das Umgekehrte muß bei den aliphatischen Säuren eintreten, bei denen gerade die Säure mit dem größten α-Wert die kleinste und außerdem noch die Säure mit dem kleinsten α die größte Steigung der Kurve zeigt. Außerdem fällt es noch auf, daß die Kurven von Butter- und Essigsäure fast genau dieselbe Form haben. Dies entspricht ihren gleichen 1/n-Werten. Wenn man aber mathematisch bestimmen will, bei welchen Konzentrationen sich zwei Adsorptionisothermen überschneiden, so wird das praktisch doch nur wenig Wert haben, da man dabei auch die Löslichkeit der Stoffe berücksichtigen müßte. Führt man bei meinen Messungen diese Rechnungen auf Grund der α und 1/n-Werte für Benzoe- und Chloressigsäure durch, so findet man ein Überschneiden der Kurven und damit eine größere Aufnahme von Benzoesäure bei einer Gleichgewichtskonzentration, die wegen der Schwerlöslichkeit der Benzoesäure in Wasser nie eintreten kann. Aber auch bei Säuren, die in hoher Konzentration in Wasser löslich sind, ist bei dieser Berechnung zu berücksichtigen, daß die Adsorptionsisotherme nur für verdünnte Lösungen gilt und daß bei größerer Konzentration das Adsorptionsmaximum und danach ein Abfallen der Kurve eintritt. Sicherer als allein auf Grund der Werte für α und 1/n ist also doch noch die Beurteilung der Adsorption mit Hilfe der Kurvenbilder. Denn diese müssen ja in jedem Falle erst gezeichnet werden, um α und 1/n berechnen zu können. Dann aber kann man aus ihnen sofort erkennen, ob ein Überschneiden der Kurven stattfindet, während die Berechnung erheblich mehr Zeit in Anspruch nehmen würde.

Kehren wir nun zum Vergleich der Kurven zurück, so sehen wir aus den Werten für α und den Kurvenbildern, daß an Hefe die aromatischen Säuren stärker adsorbiert werden als die aliphatischen mit wenigen C-Atomen. Die Einführung eines Halogens erhöht die Adsorption sowohl aliphatischer als auch aromatischer Säuren. Eine noch stärkere Erhöhung des Adsorptionswertes als durch Halogenierung tritt bei der Benzoesäure durch Einführung der Hydroxylgruppe ein. Alles dies entspricht durchaus den bei Adsorptionsbestimmungen an Kohle meist gefundenen Gesetzmäßigkeiten. Freundlich fand bei Versuchen an Kohle gleichfalls eine stärkere Aufnahme der aromatischen als der aliphatischen Säuren [21]). Ebenso bestätigt er die Erhöhung der Adsorption durch Einführung eines Halogens. Er schreibt [22]): „... Abkömmlinge der Benzoesäure mit Halogengruppen werden eher besser als schlechter adsorbiert." Den günstigen Einfluß auf die Adsorption bei der Einführung von Chlor in aliphatische Säuren zeigt uns Freundlich in der Tabelle über die Adsorbierbarkeit verschiedener Adsorptive in wäßriger Lösung durch Blutkohle [23]). Auch die Erhöhung der Adsorption durch Einführung der Hydroxylgruppe ließ sich bei Versuchen an Kohle feststellen. So schreibt Finger [24]): „... Durch Einführen einer OH-Gruppe in Benzoesäure wurde die Adsorption heraufgesetzt." Der Vergleich der Aufnahme von Fettsäuren an Hefe zeigt eine Erhöhung mit steigendem Molekulargewicht. Würde man bei Capronsäure nur den obigen α-Wert berücksichtigen, so würde man ein falsches Ergebnis bekommen; es ist auch die graphische Darstellung zu beachten. Da Capronsäure die a, c-Kurve der Buttersäure überschneidet und nicht mehr einer Adsorptions-, sondern einer Verteilungskurve entspricht, finden wir bei der zur Bestimmung von α gebrauchten Gleichgewichtskonzentration $c = 1$ zwar eine stärkere Aufnahme von Butter- als von Capronsäure. Nach dem baldigen Überschneiden der Kurven sieht man dann aber eine schnell wachsende größere Aufnahme von Capron- als von Buttersäure. Einen ähnlichen Fall, der ebenfalls zu falschen Folgerungen führen könnte, wenn man nicht die Versuche in verschiedenen Konzentrationen angesetzt hätte, erwähnt Holländer [25]) bei Bestimmungen an Kohle als Adsorbens und Brenzkatechin und Hydrochinon als Adsorptiven.

Die Gesetzmäßigkeit der Regel von Traube [26]) ($\frac{c_n}{c_{n+1}}$ = ungefähr 3) läßt sich zwar erst durch Untersuchung noch mehrerer Fettsäuren prüfen, doch scheint die für Capronsäure gefundene Verteilung, wenn auch nicht der Regel zu widersprechen, ihr doch jedenfalls eine obere Grenze zu setzen.

Ich möchte noch besprechen, wie weit sich die bei Versuchen an Kohle gefundene Beziehung der Adsorption zur Oberflächenaktivität, Löslichkeit und Dissoziationskonstante der Adsorptiva auch bei den Bestimmungen an Hefe zeigt. Der die Grundlage der Gibbsschen Theorie bildende Satz: Ein gelöster Stoff wird positiv adsorbiert, wenn er die Oberflächenspannung erniedrigt, bestätigt sich vollkommen. Die Reihenfolge der Adsorptionswerte parallel der Oberflächenaktivität zeigt sich am deutlichsten bei den Fettsäuren. Die bei Messungen an Benzoe- und Salizylsäure stalagmometrisch bestimmte Oberflächenaktivität zeigt allerdings nur einen geringen Unterschied. Goinkis[27]) findet eine etwas größere Tropfenzahl bei Salizylsäure, Bayo[28]) gerade umgekehrt bei Benzoesäure. Bei beiden Autoren aber ist der Unterschied der zwei Säuren sehr gering. Man sieht also, daß der bei Adsorptionsbestimmungen erheblich größer gefundene Wert für Salizyl- als für Benzoesäure nicht allein durch die Erniedrigung der Oberflächenspannung erklärt werden kann. Es ist vielmehr anzunehmen, daß hier noch ein anderer Einfluß auf die Adsorptionsgröße der Salizylsäure besteht. Ähnlich schreibt Freundlich[29]) auch über die Beziehungen zwischen Adsorption an Kohle und Oberflächenspannung. Nachdem er zuerst rein physikalisch Adsorption aromatischer Säuren trotz geringer Erniedrigung der Oberflächenspannung zu erklären versucht, sagt er: „Natürlich ist aber auch hier mit der spezifischen Anziehung zwischen Adsorbens und adsorbiertem Stoff zu rechnen."

Die bei Bestimmungen an Blutkohle gefundene Antibasie zwischen Adsorption und Löslichkeit[30]) läßt sich auch an Hefe feststellen. Am deutlichsten zeigt sie sich bei den schwer löslichen aromatischen Säuren. Aber auch bei den Fettsäuren steht die Reihenfolge ihrer Adsorptionswerte im umgekehrten Verhältnis zu ihrer Löslichkeit.

Zuletzt komme ich noch auf die Beziehungen zwischen Adsorption und elektrolytischer Dissoziation. Der Zusammenhang ist durchaus verständlich, wenn man bedenkt, daß die Gleichung der gewöhnlichen Adsorptionsisotherme nur für verdünnte wäßrige Lösungen nicht- oder schwach dissoziierter Stoffe gilt. Ebenso erweisen sich ja auch gerade diese Stoffe als oberflächenaktiv. Ich gebe zunächst die Größen der Dissoziationskonstanten an.

t = 25°	K
Salizylsäure	$1{,}06 \cdot 10^{-3}$
o-Chlorbenzoesäure	$1{,}32 \cdot 10^{-3}$
Benzoesäure	$6{,}6 \cdot 10^{-5}$
Essigsäure	$1{,}86 \cdot 10^{-5}$
Chloressigsäure	$1{,}55 \cdot 10^{-3}$
Buttersäure	$1{,}54 \cdot 10^{-5}$
(Capronsäure	$1{,}46 \cdot 10^{-5}$)

Als stärkste Säure müßte die Chloressigsäure eigentlich am wenigsten aufgenommen werden, wie Freundlich [31]) schreibt: „Benachteiligend auf die Adsorption wirkt die Neigung zur Dissoziation." Aber im selben Abschnitt gibt er auch die Erklärung: „Begünstigend auf die Adsorption wirken wohl auch die Halogene, sofern sie nicht die Dissoziation zu stark erhöhen." Man darf also annehmen, daß der Einfluß des Halogens sich stärker als der der Dissoziation zeigt. Bei o-Chlorbenzoe- und Salizylsäure stimmt die Reihenfolge gut in der Weise, daß die schwächere Säure stärker adsorbiert wird. Bei Benzoesäure ist dies allerdings nicht festzustellen. Man wird wohl auch hier wieder an die schon vorhin erwähnte andere Beeinflussung der Adsorptive denken. Bei allen Fettsäuren zeigt sich die Stärke der Dissoziation umgekehrt zur Aufnahme. Überhaupt war auch bei den vorangegangenen Vergleichen das Verhalten der aliphatischen Säuren am regelmäßigsten, weil bei ihnen, jedenfalls in den von mir benutzten Konzentrationen, eine besondere spezifische Wirkung auf das Adsorbens nicht vorhanden zu sein scheint.

Mit einer Änderung aller bisherigen Resultate, die so gut einen Vergleich mit der Adsorption an Kohle möglich gemacht hatten, mußte ich rechnen, als ich die Schütteldauer variierte und Messungen nach ¼ Stunde, 1 Stunde, 2 Stunden, 1 Tag und 2 Tagen vornahm. Denn, wie schon vorhin erwähnt, konnte nun außer der Adsorption eine Diffusion der Säuren ins Zellinnere stattfinden. Den ganzen Vorgang möchte ich nach Mc. B a i n [32]) als Sorption bezeichnen. In Abhängigkeit von der Zeit zeigte sich bei den Versuchen mit einer Schütteldauer von ¼ Stunde noch kein wesentlicher Unterschied gegen die ersten Bestimmungen. Die Kurven hatten noch die Gestalt einer Adsorptionsisotherme. α und 1/n hatten sich allerdings schon ein wenig geändert. Bei Messungen nach 1 und 2 Stunden sah man aber deutlich, daß man es nicht mehr nur mit einem Adsorptionsvorgange zu tun hatte. Abgesehen von der Capronsäure, die weiter eine Verteilungskurve lieferte, und der Buttersäure, deren Bild weniger verständlich war, hatten alle

übrigen Säuren doch insofern etwas Einheitliches, als sie alle ein Abbiegen ihrer Kurven und damit eine geringere Aufnahme in den höchsten Konzentrationen zeigten. Bei Benzoesäure war dieses Umbiegen der Kurve allerdings erst nach 24stündiger Schütteldauer deutlich. Diese Veränderung der Kurven dürfte wohl besagen, daß alle höheren Konzentrationen der Säuren nach längerer Schütteldauer die Säureaufnahme der Zellen nachteilig beeinflußten, also die Zellen irgendwie veränderten.

Vergleicht man die 1—2 Stundenkurven mit den Adsorptionsisothermen nach 5 Minuten Schütteldauer, so muß diese Formveränderung, die uns also zeigt, bei welcher Gleichgewichtskonzentration das Maximum der Säureaufnahme nach der jeweiligen Adsorptionszeit erreicht ist, berücksichtigt werden. Man muß daher bei dieser Betrachtung in jedem Falle angeben, ob auch bei den höchsten Gleichgewichtskonzentrationen die beiden Kurven sich unter sich ebenso verhalten wie bei den niederen Gleichgewichtskonzentrationen.

Der Vergleich der Kurven der aromatischen Säuren gestaltet sich dadurch etwas schwierig, daß die Ausgangskonzentrationen bei 5 Minuten Adsorptionszeit infolge des Anschüttelns mit Wasser geringer als bei 1—2 Stunden Schütteldauer waren. Da man aber die Gleichung der 5-Minutenisotherme aus den gefundenen α und 1/n-Werten berechnen kann, so darf man wohl diese Kurve sich danach entsprechend verlängert denken, um dann auch einen Vergleich mit den Höchstkonzentrationen der 1—2-Stundenkurve anstellen zu können. Denn sonst könnte man gerade die Konzentrationen, in denen sich bei längerer Schütteldauer der Adsorptionsabfall zeigt, nicht mit der 5-Minutenkurve vergleichen, weil dies ja erst in den höheren Konzentrationen der Fall ist. Da bei der Verlängerung der 5-Minutenkurve diese manchmal die anderen Kurven überschneidet, wird man auch zu verschiedenen Ergebnissen kommen, je nachdem, ob man als Höchstkonzentration die aus den Messungen gewonnene oder die durch die Verlängerung gefundene bezeichnet. Da ich aber glaube, daß man zu dieser Weiterführung der 5-Minutenkurve entsprechend ihrer Gleichung berechtigt ist, so ziehe ich zum Vergleich immer die ganze durch die Verlängerung entstandene 5-Minutenkurve heran.

Eine stärkere Aufnahme nach 1—2 Stunden als nach 5 Minuten zeigten Essig-, Chloressig-, Benzoe- und Salizylsäure. Bei Salizylsäure war allerdings in den beiden höchsten, bei Chloressigsäure in der höchsten Konzentration die Aufnahme nach 1—2 Stunden geringer. Von den anderen beiden Säuren, die in allen Konzentrationen nach 2 Stunden mehr als nach 5 Minuten adsorbiert wur-

den, war bei Essigsäure die Mehraufnahme ziemlich stark, während bei Benzoesäure der Unterschied nicht sehr groß war. Eine schwächere Adsorption in allen Konzentrationen nach 2stündiger Schütteldauer war bei Butter-, Capron- und o-Chlorbenzoesäure zu beobachten.

Wichtig scheint mir aber auch eine Einteilung der Säuren auf Grund ihrer Kurvenbilder danach, ob sie gerade in den höchsten Konzentrationen nach 1 oder 2 Stunden eine größere oder kleinere Aufnahme durch die Hefe als nach 5 Minuten zeigen. Denn man erkennt so, ob und innerhalb welcher Zeit die Säuren die Hefe so beeinflussen, daß ihr Sorptionsvermögen abfällt. Dann wären folgende Gruppen zu unterscheiden:

1. Salizyl-, Chlorbenzoe- und Chloressigsäure, deren Aufnahme nach 2 Stunden in den Höchstkonzentrationen kleiner als nach 5 Minuten ist;

2. Essig- und Benzoesäure, die beide (Essigsäure allerdings erheblich stärker als Benzoesäure) nach 2 Stunden mehr aufgenommen werden.

Ich betone nochmals, daß dieser Vergleich sich nur auf die Höchstkonzentrationen bezieht und daß für die aromatischen Säuren nach 5 Minuten Schütteldauer darunter die durch Kurvenverlängerung gefundenen Konzentrationen zu verstehen sind.

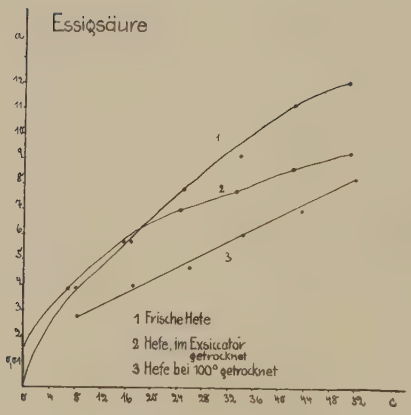
Die Abnahme der Adsorption ist wahrscheinlich eine Andeutung dafür, daß die Hefe bei längerer Schütteldauer zum Teil getötet wird. In den Versuchen, die ich noch später bespreche, werde ich noch einige Angaben zugunsten dieser Annahme machen.

Nach einer Schütteldauer von 24 Stunden zeigte Chloressigsäure eine unverständliche Sorptionskurve. Salizylsäure wurde in den höheren Konzentrationen noch weniger als nach 2 Stunden und dementsprechend auch noch weniger als nach 5 Minuten aufgenommen. In den kleineren Konzentrationen war dagegen die Aufnahme nach 24 Stunden größer als nach 5 Minuten und 2 Stunden. Essig- und Benzoesäure wurden nach 24 Stunden beide stärker als nach 5 Minuten aufgenommen. Dagegen unterschieden sie sich, wenn man ihre Sorption nach 24 Stunden mit der nach 2 Stunden verglich. In diesem Fall war nur die Adsorption der Benzoesäure nach 24 Stunden größer, während Essigsäure nach 24 Stunden weniger als nach 2 Stunden aufgenommen wurde. Das Verhalten der Höchstkonzentrationen muß bei beiden Säuren wieder besonders erwähnt werden. Bei Essigsäure war die Aufnahme in der Höchstkonzentration nach 24 Stunden ebenso groß wie nach zwei Stunden, bei Benzoesäure geringer. Verglichen mit der Aufnahme nach 5 Minuten war nach 24 Stunden die Adsorption der Essig-

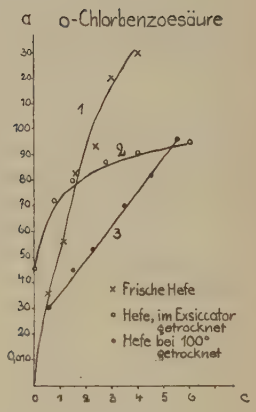
säure auch in der Höchstkonzentration trotz des Abfalls der Kurve immer noch größer, bei Benzoesäure war dagegen die Aufnahme in der Höchstkonzentration nach 24 Stunden ungefähr ebenso groß wie nach 5 Minuten. Beachtenswert erscheint es auch, daß die Buttersäure, die nach 24 Stunden in allen Konzentrationen weniger als nach 5 Minuten aufgenommen wurde, jetzt eine Kurve lieferte, die einer Verteilungsgeraden ähnelt. Es veranlaßt, darüber nachzudenken, ob vielleicht Buttersäure, die ihrem Molekulargewicht nach zwischen Essig- und Capronsäure steht, innerhalb längerer Einwirkungszeit von der Oberfläche der Zelle in das Zellinnere eindringt und sich zwischen diesem und der wäßrigen Lösung verteilt.

II.

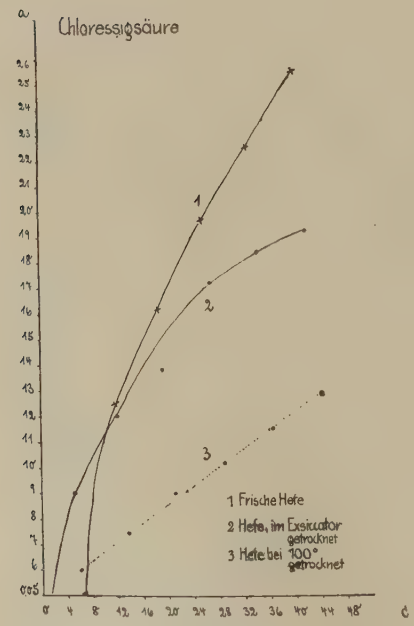
Die Frage, ob die Bindungsfähigkeit gegenüber den Adsorptiven nur eine Eigenschaft lebender oder gärfähiger Hefe wäre, mußte sich beantworten lassen, wenn man die bisher ausgeführten Versuche mit toter statt frischer Hefe als Adsorbens ansetzte. Dabei konnte man, je nachdem, wie die Tötung ausgeführt wurde, noch gärfähige oder nicht mehr gärfähige Hefe erhalten. Die Herstellung der letzteren erfolgte durch Erhitzen auf 100°. Außerdem setzte ich noch als Übergangsbestimmungen Versuche mit Hefe an, die im Vakuumexsikkator getrocknet war. Während die durch Erhitzen getrocknete Hefe keine lebenden Zellen mehr besaß und auch keine Kohlensäure mehr entwickeln konnte, hatte die im Exsikkator getrocknete Hefe noch ungefähr 20 % lebende Zellen und hatte sich vor allem noch ihre Gärfähigkeit bewahrt. Von den vorbehandelten Hefen wurden stets die 1 g Frischhefe entsprechenden Mengen zu den Versuchen benutzt. Über die Bestimmungen mit toter, aber noch gärfähiger Hefe spreche ich weiter unten noch ausführlich. Zunächst möchte ich die mit den beiden anderen Hefesorten erhaltenen Resultate mitteilen. Die graphische Darstellung der aufgenommenen Säuremengen (Bild 13—17) zeigte deutlich den Unterschied der beiden Hefesorten. Während die noch gärfähige und zum Teil noch lebende Zellen enthaltende Exsikkatorhefe bei allen Bestimmungen noch Adsorptionsisothermen lieferte, zeigte die durch Erhitzen getrocknete Hefe in allen Fällen Verteilungen. Ich konnte mich bei diesen Bestimmungen mit einer Schütteldauer von 5 Minuten begnügen, weil zu erwarten war, daß die Verteilungskurve sich auch bei längerer Behandlung nicht wesentlich ändern würde und weil andererseits die Kurve der Exsikkatorhefe kein prinzipiell neues Bild gegenüber den Versuchen mit frischer Hefe lieferte. Der



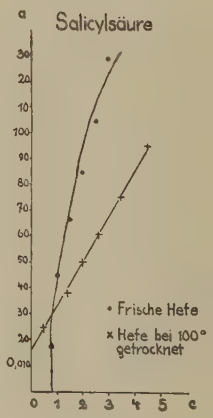
Tafel 13



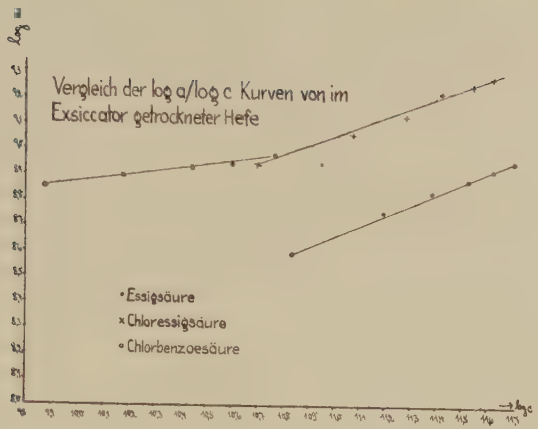
Tafel 15



Tafel 14



Tafel 16

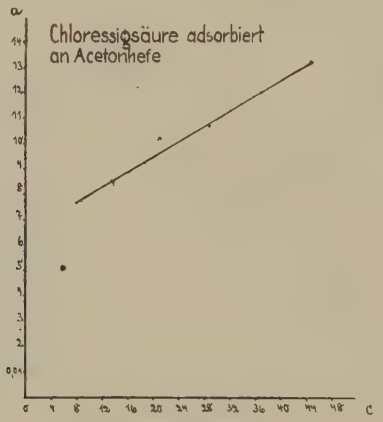


Tafel 17

Unterschied der Ergebnisse wird leichter verständlich, wenn man vom physiologischen Standpunkt betrachtet, was für Veränderungen in den Hefezellen vorgegangen sind. Erhitzt man frische Hefe, so verlieren die Zellen durch den damit verbundenen Wasserverlust ihre Turgeszenz. Zunächst erfolgt eine Verkürzung der Zellen, dann eine Entspannung der Membran und schließlich hebt sich das Protoplasma von der Zellwand ab, Plasmolyse tritt ein. Diese kann wieder rückgängig gemacht werden, wenn man die Zelle in reines Wasser bringt, und zwar wohl um so eher und rascher, je schonender und unvollständiger die Trocknung vorgenommen wurde. Die ursprüngliche Turgeszenz tritt dann wieder ein. Dies entspricht bei meinen Versuchen dem Verhalten der Exsikkatorhefe. Bei der auf 100° erhitzten Hefe aber ist die Wiederherstellung der Turgeszenz nicht möglich. Denn bei dieser Temperatur ist das Protoplasma getötet und hat dabei seine Semipermeabilität verloren. Die bei den Versuchen mit bei 100° getrockneter Hefe beobachtete Verteilung ist ein Beweis dafür, daß die lebende Hefe, bei der vorher Adsorption stattfand, durch ihre Lebenstätigkeit die A r t der Aufnahme bestimmte. Aber die folgenden Betrachtungen zeigen, daß auch die aufgenommene M e n g e durch den Lebensprozeß der Hefe beeinflußt wird. Vergleicht man die Säuremengen, die von 1 g frischer Hefe und den entsprechenden Mengen der beiden getrockneten Hefesorten aufgenommen wurden, so findet man ein Abnehmen in der Reihenfolge: Frischhefe — Exsikkatorhefe — Hefe bei 100° getrocknet. In der kleinsten Konzentration sind die Unterschiede allerdings manchmal nur gering. Die bei den

Versuchen mit frischer Hefe beobachtete Erhöhung der Adsorption durch Einführung eines Halogens läßt sich auch jetzt wieder bestätigen. Sowohl die Exsikkator- wie die bei 100° getrocknete Hefe zeigt eine erhebliche Mehraufnahme von Chloressig- als von Essigsäure.

Die Herstellung einer zwar toten, aber noch gärfähigen Hefe sollte nach zwei Methoden möglich sein. Erstens gibt Buchner[33]) an, eine solche Hefe erhalten zu haben, wenn er Bierhefe zunächst 1—2 Tage an der Luft, dann bei 37° und schließlich 6 Stunden bei 100° trocknete. Als zweites Verfahren teilen Buchner, Albert und Rapp[34]) die Herstellung der Acetondauer-



Tafel 18

hefe mit. Bei der Darstellung der Trockenhefe hat Buchner allerdings fast nur mit untergäriger Bierhefe gearbeitet. Daher war nicht unbedingt dasselbe Ergebnis bei Verwendung von obergäriger Brennereihefe zu erwarten. Leider fehlen auch bei Buchner Angaben über die Dauer des Trocknens bei 37°, was man aber, wie auch Euler[35]) schreibt, wissen müßte. Ich wählte daher das zweite Verfahren und setzte meine Untersuchungen mit Acetonhefe als Adsorbens fort. Die Aufnahme der Essigsäure zeigte auch bei mehreren Bestimmungen keinen regelmäßigen Verlauf. Regelmäßiger verhielt sich die Chloressigsäure. Die Kurve der Aufnahme (Bild 18) näherte sich einer Verteilungskurve. Beim Vergleich der beiden Kurven konnte man wieder deutlich die Erhöhung der Säureaufnahme durch Einführung eines Halogens feststellen.

Ich möchte noch einige physiologische Beobachtungen mitteilen, die ich beim Prüfen der Acetonhefe auf Leben und Gärfähigkeit

machte. Ich setzte die Bestimmungen der Kohlensäureentwicklung mit 1 g Acetonhefe und 10 ccm 5prozentiger Traubenzuckerlösung an. Zahlreiche Versuche mit frischer Hefe hatten ergeben, daß diese Konzentration einer schnellen Vergärung günstig war [36]). Bei meinen Messungen trat aber immer eine längere Induktionsperiode ein, bevor die Gärung begann. Die Ergebnisse stimmten gut überein mit den Resultaten, die Häggl und [37]) erhalten hatte. In seinen Angaben zeigt Hägglund, daß die Dauer der Induktionsperiode wechselt, je nachdem, ob man mit ober- oder untergäriger Trocken- oder Acetonhefe arbeitet. Das Auftreten der Induktionsperiode ließ den Gedanken nahe kommen, daß die Acetonhefe vielleicht doch noch einige lebende Zellen enthält, die sich in dieser Zeit vermehren und sich dann durch die Gärung bemerkbar machen. Diese Vermutung wird allerdings durch die von mir ausgeführten Färbeversuche mit in Zuckerlösung angesetzter Acetonhefe nicht gestützt. Während trockne Acetonhefe sich vollkommen färbte, also keine lebenden Zellen zeigte, versagte die Prüfung, wenn man diese Hefe nach dem Gären mit Methylenblau prüfte. Bei stündlicher mikroskopischer Untersuchung von zum Gären angesetzter Hefe konnte ich dann eine ungefähre Parallelität zwischen Gärvermögen und Versagen der Färbung feststellen. Auch diese Angaben sind in der Literatur bestätigt [38]). Das Nichteintreten der Methylenblaufärbung bei der einige Zeit in Zuckerlösung sich befindlichen Acetonhefe soll aber nicht als Beweis des Wiedereintritts des vollen Lebens der Zelle gelten. Es kann das Ausbleiben der Färbung auch durch den Wiedereintritt der Betätigung eines reduzierenden Ferments, durch physikalische Veränderungen der Zelle oder durch andere Umstände bedingt sein. Durch die in Abschnitt III ausgeführten Versuche ist jedenfalls die Unfähigkeit der Acetonhefe, sich zu vermehren, nachgewiesen.

Die Schwierigkeit dieses Problems erkennt man durch die heute vorhandenen zwei Richtungen der Biologen, von denen die einen [39]) (Abderhalden, Fodor, Sobotka) annehmen, daß Gärung nur durch lebende Hefe bewirkt werden könne, während die anderen [40]) (Buchner, Euler, Harden) glauben, daß dieser Vorgang allein durch die in der Hefe vorhandenen Enzyme verursacht werde.

Erwähnen möchte ich noch, daß Acetonhefe, nur in Wasser angesetzt, Selbstgärung zeigte, was ich an frischer Hefe nie beobachten konnte. Bei einer Prüfung mit Kalilauge erwies sich nur ungefähr die Hälfte des entwickelten Gases als Kohlensäure. Der Rest des Gases dürfte Stickstoff gewesen sein, dessen Entwicklung bei der Proteolyse getöteter Hefe bekannt ist [41]).

III.

Die Vorgänge bei der Adsorption an frischer Hefe mußten leichter verständlich werden, wenn man wußte, wie die adsorbierten Säuren auf das Leben der Hefezellen wirkten. Denn je nachdem, ob sie die Entwicklung der Zellen mehr oder weniger beeinflußten, war in Abhängigkeit von der Zeit mit einer Änderung der aufgenommenen Säuremengen zu rechnen. Ich untersuchte deshalb, ob frische Hefe, die nach dem Schütteln mit den organischen Säuren in Bierwürze geimpft wurde, noch fortpflanzungsfähig oder getötet ist. Dabei bedeutet Tötung immer eine 100prozentige Vernichtung. Wie zu erwarten war, zeigte sich eine verschiedene Wirkung der Säuren bei Änderung der Schütteldauer. Nie ergab sich eine Tötung durch die Säuren in den zur Adsorption verwandten Konzentrationen, wenn die Impfung nach nur 5 Minuten dauerndem Schütteln vorgenommen wurde. Dagegen konnte man die verschiedene Wirkung der Säuren erkennen, wenn sie 2 Stunden auf die Hefe zur Einwirkung kamen. Nach der Konzentration, in der die Säuren töteten, ergab sich für die Wirkung der Säuren folgende abnehmende Reihe: Salizylsäure — Chlorbenzoesäure — Chloressigsäure — Benzoesäure, wobei Benzoesäure noch nicht restlos abtötete. Keine Abtötung in den zur Adsorption verwandten Konzentrationen fand man bei Essig-, Butter- und Capronsäure. Daß durch 24stündiges Behandeln der Hefe mit den Säuren mehr Zellen als nach 2 Stunden getötet wurden, zeigte sich am deutlichsten bei der Chloressig- und Chlorbenzoesäure. Denn beide Säuren brauchten nach dieser Schütteldauer zur vollkommenen Abtötung eine kleinere Konzentration als nach 2 Stunden. Chloressigsäure zeigte jetzt in allen Konzentrationen vollkommene Tötung, während nach 2 Stunden durch die schwächste Konzentration nicht alle Zellen vernichtet wurden. Auch bei den übrigen Säuren, bei denen zur vollkommenen Tötung auch nach 24stündigem Schütteln nur dieselben Konzentrationen wie nach 2stündigem genügten, konnte man doch dadurch die größere Wirksamkeit bei längerer Behandlung beobachten, daß nach 24 Stunden sich in der ersten nicht 100prozentig tötenden Konzentration ein geringerer Niederschlag, also weniger vermehrungsfähige Zellen als nach 2 Stunden zeigten. Durch die praktisch mögliche Höchstkonzentration der Benzoesäure konnte in keinem Falle eine vollkommene Abtötung erzielt werden. Daß die Hefe von den aliphatischen Säuren in den zur Adsorption benutzten Konzentrationen nicht vollkommen getötet wurde, war nach den in der Literatur vorliegenden Angaben anzunehmen. Besonders Hägglund [42]) hatte den Einfluß zahlreicher

organischer Säuren auf die Hefeentwicklung untersucht. Nach der Zählmethode hatte er mit Hilfe der Thomas-Zeißschen Kammer festgestellt, wie die einzelnen Säuren in verschiedenen Konzentrationen die Zellvermehrung beeinflußten. Für Buttersäure fand er bei einer Konzentration von 0,048 Mol die Zellvermehrung = 0. Diese Konzentration stimmte fast genau überein mit meiner für die Adsorption benutzten Höchstkonzentration. Wenn man aus Hägglunds Versuchen bis dahin auch noch nicht erkennen kann, ob die Wirkung der Buttersäure nur eine hemmende oder eine tötende sei, so gibt uns seine nächste Bestimmung darüber Auskunft. Bei einer Konzentration von 0,111 Mol wurde die Zellvermehrung negativ, es hatten sich also einige Zellen aufgelöst. Von einer nur hemmenden Wirkung ist nun nicht mehr zu sprechen. Ich bestimmte nun, bei welcher Konzentration die Buttersäure eine vollkommene Tötung verursachte. Dies geschah

bei 5 Minuten dauerndem Schütteln durch eine 4prozentige Lösung,
bei 2 Stunden dauerndem Schütteln durch eine 3prozentige Lösung.

Für Essigsäure bekam ich dasselbe Resultat

bei 5 Minuten Schütteldauer durch eine 8,4prozentige Lösung,
bei 2 Stunden Schütteldauer durch eine 6,3prozentige Lösung,
bei 24 Stunden Schütteldauer durch eine 4,2prozentige Lösung.

In der Tabelle III sind die für die Abtötung in 5 Minuten, 2 und 24 Stunden benötigten Millimolkonzentrationen der Säuren angegeben. In den Kurvenbildern 26 und 27 ist als Abtötungs- und Gärhemmungskonzentration nicht die Ausgangs-, sondern die entsprechende Gleichgewichtskonzentration angegeben, da man in beiden Fällen die Adsorption berücksichtigen muß. Soweit die Ausgangskonzentration von derselben Größenordnung war wie bei den Versuchen in Abschnitt I, sind danach die Gleichgewichtskonzentrationen berechnet. Bei den Säuren aber, bei denen die wirksamen Ausgangskonzentrationen größer waren als bei den früheren Bestimmungen, geschah die Berechnung der Gleichgewichtskonzentration nach den Angaben von Mecklenburg[43]), die es ermöglichen, aus der Ausgangs- die Gleichgewichtskonzentration festzustellen. Die Gleichgewichtskonzentrationen wurden für die Gärhemmungsbestimmungen aus den Adsorptionsisothermen nach 5 Minuten langer Schütteldauer, dagegen für die Abtötungsversuche aus den Kurven nach 1—2stündiger (Bild 26) bzw. 24stündiger (Bild 27) Adsorptionszeit berechnet.

Obgleich die Essigsäure stärker dissoziiert als Buttersäure ist, zeigt sie also doch eine erheblich schwächere Giftwirkung. Ver-

gleicht man die für Essigsäure erhaltene Tötungskonzentration mit der Stärke der von mir für die Adsorptionsversuche benutzten Lösungen, so wird es wahrscheinlich, daß die Essigsäure die Hefe bei diesen Bestimmungen nicht schädigte. Dadurch aber wird es verständlich, daß Essigsäure nach 2stündigem Schütteln erheblich stärker als nach 5 Minuten aufgenommen werden konnte. Benzoesäure, die bei den Zellvermehrungsbestimmungen sich von allen aromatischen Säuren als schwächste erwiesen hatte, wurde dementsprechend bei der Adsorption nach 2 Stunden auch noch etwas mehr als nach 5 Minuten aufgenommen. Chloressig-, Salizyl- und Chlorbenzoesäure wurden, wie es nach den Ergebnissen der Impfversuche infolge ihrer Giftwirkung zu erwarten war, nach längerer Einwirkung vor allem in ihren Höchstkonzentrationen weniger als nach 5 Minuten aufgenommen. Auch die Adsorptionsbestimmungen mit Buttersäure, die eine Verminderung der aufgenommenen Menge mit der Zeit ergeben hatten, werden sich so bei Berücksichtigung ihrer physiologischen Wirkung erklären lassen.

IV.

Aus Hägglunds Abhandlung ersieht man, daß es von gleich großem Interesse ist, außer der abtötenden Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Hefezellen auch ihren Einfluß bezüglich der Gärung kennenzulernen. Ich prüfte daher alle bisher genannten Säuren auf ihre gärhemmende Wirkung. Außerdem wurden zu dieser Untersuchung dann noch eine Anzahl von Stoffen hinzugezogen, die bisher noch nicht erwähnt wurden, weil ihre Aufnahme durch Hefe nur in einer Konzentration bestimmt worden war. Die Versuche wurden mit 0,1 g Hefe in 10 ccm Zuckerlösung, der die verschiedenen Säuren hinzugefügt wurden, angesetzt. Die Wirksamkeit der Stoffe vergleicht man nach den geringsten millimolaren Konzentrationen, die die Gärung verhindern. Diese sind dem Wirkungswert umgekehrt proportional, da ein Stoff um so schwächer hemmt, je größer die dazu benötigte Konzentration ist. Um den Vergleich übersichtlicher zu gestalten, wird der Wirkungswert des Phenols = 1 gesetzt. Ich fand folgende Wirksamkeit der Stoffe in steigender Anordnung:

Tabelle II.

Stoff	Wirksame Ausgangskonzentration Millimol/Liter	Phenolkoeffizient
Malonsäure	201,86	0,26
Essigsäure	99,95	0,53
Propionsäure	94,53	0,56
Buttersäure	68,13	0,78
Nikotin	61,65	0,86
Phenol	53,20	1,00
Maleinsäure	51,71	1,0
Oxalsäure	44,44	1,2
Capronsäure	25,84	2,0
Trichloressigsäure	24,48	2,1
Dichloressigsäure	23,27	2,2
Ameisensäure	10,86	4,9
Benzoesäure	8,19	6,5
Salizylsäure	5,4	9,8
Monochloressigsäure	5,29	10,0
o-Chlorbenzoesäure	5,11	10,4

Außerdem wurde noch festgestellt, daß die Gärung nicht gehemmt wurde durch

Bernsteinsäure	bei	508	Millimol	im	Liter
Fumarsäure	„	43	„	„	„
Phthalsäure	„	36	„	„	„

Anschließend sind zum Vergleich die in Abschnitt III gefundenen geringsten abtötenden Ausgangskonzentrationen der 6 Säuren den hier gefundenen geringsten gärungsverhindernden gegenübergestellt.

Tabelle III.

Vergleich der Abtötungs- und Gärhemmungskonzentrationen.

Stoff	Abtötungsausgangskonzentration nach Absorptionszeit von			Gärhemmungsausgangskonzentration
	5 Minuten	2 Stunden	24 Stunden	Millimol/Liter
Salizylsäure	—	5,4	5,4	5,4
Benzoesäure	—	(13,6)	(13,6)	8,19
o-Chlorbenzoesäure	—	10,7	8,5	5,11
Essigsäure	1400	1050	700	99,95
Chloressigsäure	—	16,8	8,4	5,29
Buttersäure	473	355	355	68,13

Die Abtötungswerte für Benzoesäure sind in Klammern gesetzt, weil bei Benzoesäure zwar nie eine 100%ige Abtötung stattfand, aber doch bei diesen Konzentrationen eine sehr große Zellvernichtung festzustellen war.

Außerdem gebe ich noch in einer Tabelle die Gleichgewichtskonzentrationen für die Abtötung und Gärhemmung an, soweit sie sich berechnen ließen, weil diese Werte in den Bildern 26 und 27 angegeben sind.

Tabelle IV.

Vergleich der Gleichgewichtskonzentrationen bei der Abtötung und Gärhemmung.

Stoff	Abtötungsgleichgewichtskonzentration nach Adsorptionszeit von		Gärhemmungsgleichgewichtskonzentration
	2 Stunden	24 Stunden	Millimol/Liter
Salizylsäure	1,5	0,5	1,55
Benzoesäure	(10,4)	(9,5)	6,0
o-Chlorbenzoesäure	7,0	—	2,0
Essigsäure	—	—	96,0
Chloressigsäure	11,0	3,5	3,4
Buttersäure	—	—	64,0

Die Werte für Benzoesäure sind aus demselben Grunde wie in Tabelle III in Klammern gesetzt.

Ähnlich wie bei den Adsorptions- und Abtötungsbestimmungen zeigen sich auch hier die aromatischen Säuren den aliphatischen weit überlegen. Nur die Monochloressigsäure ist auch jetzt wieder fast am wirksamsten. Die Abhängigkeit der Wirksamkeit von der Konstitution erkennt man, wenn man Benzoesäure und Phthalsäure vergleicht. Die Einführung einer zweiten Carboxylgruppe macht die Benzoesäure bei ihrer Umwandlung zur Phtalsäure unwirksam. Auch bei den aliphatischen Säuren scheint eine Verkleinerung des Phenolkoeffizienten der Bicarbon- gegenüber den Monocarbonsäuren zu bestehen. Von den Säuren der Paraffinreihe nimmt, wie bei vielen Vergleichen, die Ameisensäure eine Ausnahmestellung ein. Sie ist erheblich wirksamer als alle anderen. Bei den übrigen Gliedern dieser Reihe steigt der Phenolkoeffizient mit wachsendem Molekulargewicht und umgekehrt zu ihrer Dissoziationskonstante. Eine parallele Wirkungssteigerung wurde bei den Fortpflanzungsbestimmungen beobachtet. Während in früheren Arbeiten angenommen wurde, daß die Säuren die Gärung entsprechend ihrer Stärke hemmen, meint Johannesohn[44]), daß die nichtdissozi-

ierten Moleküle die Hauptrolle bei diesem Vorgang spielen. Hägglund glaubt allerdings, daß dies nur für die Glieder der Ameisensäurereihe zutreffen würde. Die Berechtigung von Hägglunds Einschränkung erkennt man, wenn man die Wirksamkeit der Glieder der Oxalsäurereihe untereinander vergleicht. Während die Stärke dieser Säuren mit steigendem Molekulargewicht abnimmt, und damit der Anteil der nichtdissoziierten Moleküle wächst, wird ihre Gärhemmungsfähigkeit kleiner und verschwindet schließlich.

Interessant ist auch das Verhalten von Fumar- und Maleinsäure. Man glaubt zunächst, wenn man die Unwirksamkeit der Fumarsäure festgestellt hat, dies auf ihre Schwerlöslichkeit in Wasser zurückführen zu dürfen. Die Wirksamkeit der Maleinsäure findet man dann aber nicht, wie man vermutet, in einer viel höheren, sondern in ungefähr derselben Konzentration, in der die Fumarsäure die Gärung nicht hemmen kann. Auch dieses Beispiel zeigt, daß die Bedeutung spezifischer Einflüsse bei der Beurteilung der Wirksamkeit eines Stoffes nicht vernachlässigt werden darf. Auf denselben Gedanken bringt uns auch das Verhalten der drei chlorierten Essigsäuren. Wenn auch hier Johannesohns Erklärung den Abfall des Phenolkoeffizienten von der Mono- zur Dichloressigsäure verständlich machen würde, so genügt sie doch nicht, um den praktisch nicht bestehenden Unterschied dieser Werte zwischen Di- und Trichloressigsäure klar zu machen.

Auch Overton[45]) muß an dieser Stelle genannt werden, nach dessen Ansicht das Eindringungsvermögen der Stoffe und damit ihre Wirkung auf die Zelle von ihrer Lipoidlöslichkeit abhängig ist.

Zuletzt möchte ich noch erwähnen, daß das Verhalten des Nikotins zeigt, daß auch organische Basen die Fähigkeit haben, die Gärung zu verhindern.

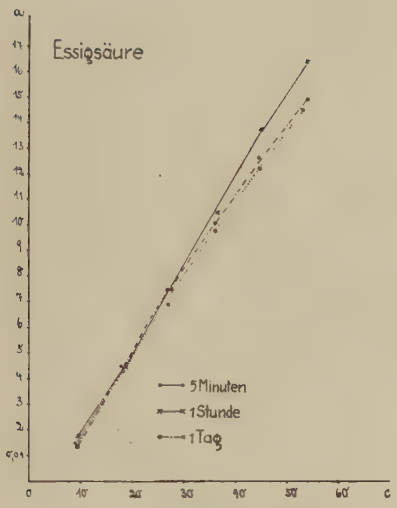
V.

Diese Versuche wurden ausgeführt, um den Unterschied in der Aufnahme derselben Adsorptive durch verschiedene Adsorbentien zu prüfen. Ich benutzte dazu Lappen aus reiner Wolle. Von den aliphatischen Säuren wählte ich Essig- und Capronsäure, von den aromatischen die Benzoesäure. In der Variierung der Versuche ging ich ebenso wie bei den Bestimmungen an Hefe vor, indem ich feststellte, welche Säuremenge nach verschieden langer Schütteldauer aufgenommen wurde. Ich gebe zunächst die Werte für α und 1/n an, verglichen mit den an Hefe gefundenen.

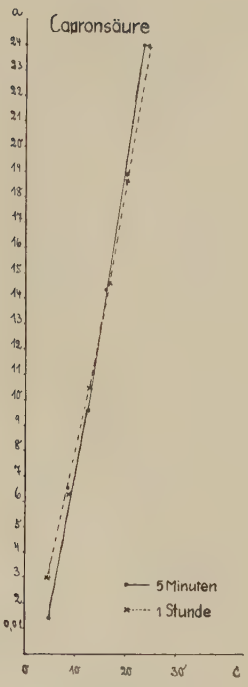
Stoff	Adsorption an Wolle		Adsorption an Hefe	
	α	1/n	α	1/n
Essigsäure	0,0010	1,28	0,0206	0,42
Capronsäure	0,0052	1,19	0,0046	1,00
Benzoesäure	0,0297	0,90	0,0283	0,50
p-Oxybenzoesäuremethylester	0,0051	1,43	—	—
Essigsäure, adsorbiert an gezupfter Wolle	0,0056	0,90	—	—

Die Beurteilung des Ergebnisses soll hier ebenso wie in Abschnitt I auf Grund der α-Werte und der Kurvenbilder (19—24) erfolgen. Dabei ergibt sich, daß von den 3 Säuren Benzoesäure am stärksten, Essigsäure am schwächsten aufgenommen wurde. Capronsäure, die die Mittelstellung einnahm, wurde allerdings erheblich stärker als Essigsäure sorbiert. Diese Reihenfolge blieb auch bei Änderung der Schütteldauer bestehen. Ein Vergleich mit den von Hefe aufgenommenen Mengen zeigte Wolle gegenüber Benzoe- und Capronsäure als stärkeres Adsorbens. Die Essigsäurekurven an Hefe und Wolle überschnitten sich, doch wurde in den meisten Konzentrationen durch Hefe noch ein wenig mehr als durch Wolle aufgenommen. Interessant war es auch, daß eine Aufnahme des p-Oxybenzoesäuremethylesters durch Wolle konstatiert werden konnte, während dies bei Hefe nicht möglich war. Hier war die Aufnahme jedenfalls in den von mir untersuchten Konzentrationen fast ebenso stark wie die der Benzoesäure, also wesentlich stärker als die der Essigsäue, wenn auch die α-Werte der beiden Stoffe stark differieren. Dies zeigt, daß sich verschiedene Adsorptive gegenüber verschiedenen Adsorbentien recht verschieden verhalten können.

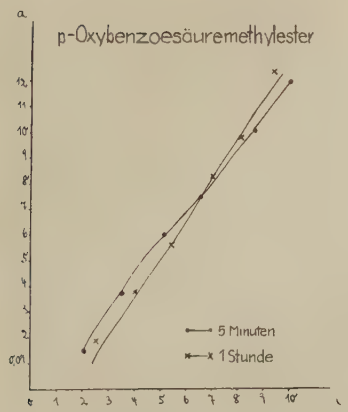
Eine wesentliche Änderung der aufgenommenen Säuremenge bei verschiedener Schütteldauer, wie sie die Versuche an Hefe ergeben hatten, konnte nicht beobachtet werden. Das soll aber nicht heißen, daß die Bestimmungen nach 5 Minuten und 1 Stunde dieselben Resultate lieferten. Die Verschiedenheit der Ergebnisse dieser Messungen war vielmehr insofern von Bedeutung, als es dadurch möglich wurde, im Zusammenhang mit anderen in der Literatur über dieses Gebiet vorliegenden Arbeiten der Beantwortung der Frage näherzukommen, in welcher Weise eigentlich die Säuren von der Wolle aufgenommen wurden. Theoretisch konnte Adsorption, Lösung oder beides, die Sorption, stattfinden. Letzteres war am wahrscheinlichsten, da Wolle nicht wie die Hefe durch ihre Zellhaut



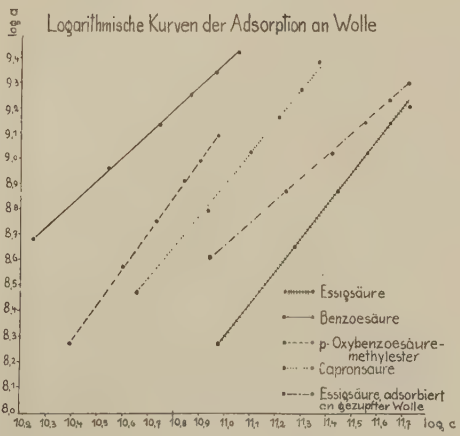
Tafel 19



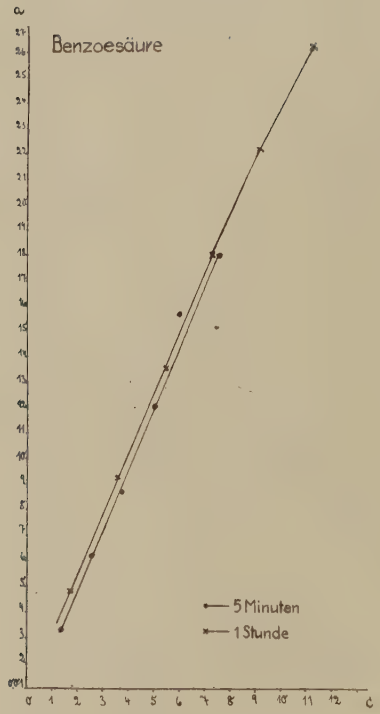
Tafel 20



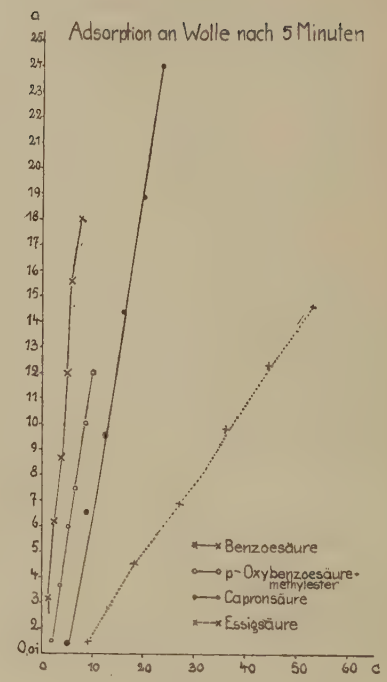
Tafel 22



Tafel 24



Tafel 21



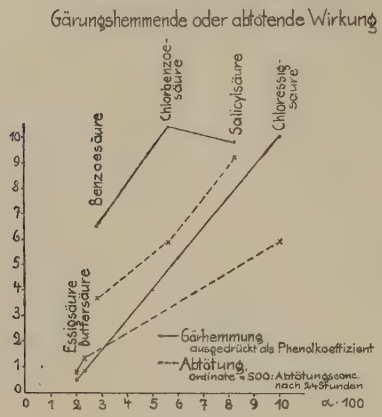
Tafel 23

dem Eindringen der Stoffe ins Innere Widerstand leisten konnte. Eine Trennung der beiden Vorgänge war nicht möglich. Die einzige Hoffnung bestand darin, daß abhängig von der Zeit sich Adsorption oder Lösung stärker bemerkbar machten und daß man dies durch die graphische Darstellung erkennen konnte. Die a, c-Kurven nach 5 Minuten und nach 1 Stunde schienen aber beide Lösungskurven zu sein. Die Entscheidung konnte erst durch das logarithmische Bild getroffen werden. Denn jetzt zeigte sich, daß die Aufnahme nach 1 Stunde vollkommen einer Adsorption entsprach, während man nach 5 Minuten entsprechend der Form der log a, log c-Kurve im besten Fall einen einer Adsorption ähnlichen Vorgang vermuten durfte. Jetzt klärte es sich aber auch auf, warum man aus der Form der a, c-Kurven eine Lösung annehmen durfte. Die Werte für 1/n, die ja nur mit Hilfe der logarithmischen Kurve berechnet werden können, bewegten sich für alle Stoffe zwischen

0,9 und 1,37, also sehr nahe dem Wert $1/n = 1$. Daher konnten die erhaltenen Adsorptionskurven, die für $1/n = 1$ eine Lösung darstellen, in ihrer Form nur sehr wenig von einer geraden Linie abweichen. Diese Ergebnisse stimmen gut überein mit den Angaben von Georgievics[46–53]), der in zahlreichen Abhandlungen die Sorption durch Wolle behandelt hat. Zwar hat Georgievics seine Messungen im wesentlichen nach einer Schütteldauer von 24 Stunden vorgenommen, doch glaube ich trotzdem seine theoretischen Ergebnisse auch zur Erklärung meiner Bestimmungen heranziehen zu dürfen. Georgievics, der zahlreiche Mineralsäuren, aromatische und aliphatische Säuren untersucht hat, nimmt an, daß die Aufnahme durch Wolle ein dualistischer Vorgang ist, in dem manchmal Adsorption, manchmal Lösung überwiegt. Da er auch im Anfange einen sehr unregelmäßigen Verlauf der Adsorption und bei verdünnten Lösungen für den Adsorptionsexponenten den Wert $n = 1$ fand, glaubt er, daß zuerst Lösung, dann Adsorption stattfindet. Er betont aber, daß daneben weiter eine Diffussion von Säure ins Innere der Faser möglich ist. Daß gerade bei den einbasischen Säuren die Diffusion sehr stark ist, erklärt er an anderer Stelle. Dadurch aber wird die Entscheidung besonders erschwert. Auch die Unmöglichkeit, die Geschwindigkeit des Vorganges als Charakteristikum der Adsorption anzusehen, gibt Georgievics an; denn auch ein Lösungsvorgang kann schnell verlaufen.

Wenn es aber auch praktisch nicht möglich ist, die adsorbierte und die gelöste Säuremenge zu bestimmen, so glaubt Georgievics doch, auf Grund theoretischer Erwägungen jedenfalls qualitativ entscheiden zu können, ob bei der ganzen Aufnahme die Adsorption oder die Lösung stärker beteiligt war. Er benutzt dazu den reziproken Adsorptionsexponenten n, dessen vorher rein mathematische Bedeutung damit auch physikalisch-chemisch erklärt wird. Georgievics findet, daß der n-Wert der von ihm untersuchten Säuren ihrer Stärke parallel lief. Er fand für HCl $n = 5$, dagegen für Fett- und aromatische Säuren $n = 1$—2. Andererseits zeigt er, daß die Adsorption eine Funktion dieses Wertes ist. Daraus ergibt sich, daß die Adsorption, nicht aber die Sorption, durch die Stärke der Säuren bestimmt wird. Wenn ich dies auf meine Versuche übertrage, so muß ich für die untersuchten Säuren einen n-Wert in der Nähe von 1 erwarten. Dies stimmt vollkommen überein mit meinen Messungen. Denn ich erhielt $n = 0{,}73$—1,1. Daß bei gleichem n die Sorption verschieden sein kann, zeigen meine Werte für Essig- und Capronsäure. Dies wäre so zu erklären, daß zwar von beiden Säuren ein ungefähr gleicher Teil an Wolle adsorbiert wird, daß aber Capronsäure sich besser in Wolle löst als Essigsäure.

Zusammenfassung.



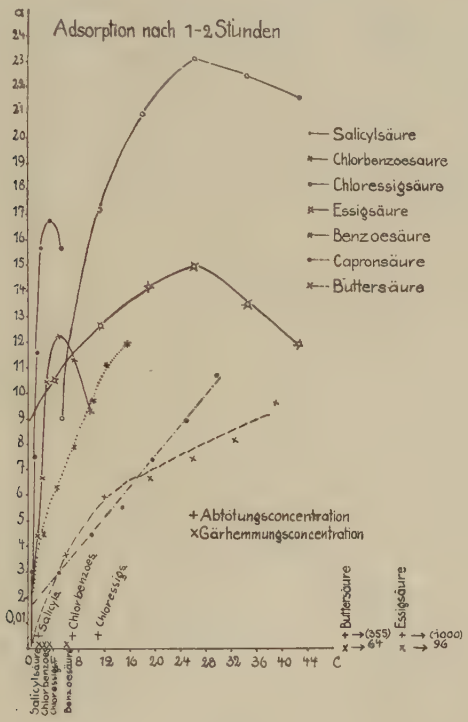
Tafel 25

Die in den Abschnitten I, III und IV erzielten Ergebnisse lassen sich zur Ermittlung einer eventuellen Beziehung zwischen der Adsorptionsfähigkeit der Stoffe an Hefe und ihrer Giftwirkung gegenüber Hefe verwerten. In Abbildung 25 sind als Abszisse die gefundenen α der Adsorption, als Ordinate die gefundenen Phenolkoeffizienten der Gärungshinderung und außerdem Wirkungsgrade der Abtötung eingetragen. Letztere wurden erhalten durch Division der gefundenen 24stündigen Abtötungskonzentrationen in 500. Die strukturchemisch einander nahestehenden Stoffe sind unter sich verbunden. Man sieht, daß bei den aliphatischen Säuren die gärhindernde und abtötende Wirkung, bei den zyklischen Säuren die abtötende Wirkung in voller Symbasie mit der Adsorptionsfähigkeit sind, nur bei der gärungsverhindernden Wirkung zyklischer Säuren zeigt die Chlorbenzoesäure eine etwas stärkere Giftwirkung, als ihr nach dem Adsorptionsverhalten beim Vergleich mit Salizyl- und Benzoesäure zukommen sollte.

Berechnet man die bei der gärungshindernden Mindestkonzentration der Säure von der Hefe unter gleichen Versuchsbedingungen adsorbierte Millimolmenge, so findet man folgende Werte:

Salizylsäure . . .	0,115	Millimol
Benzoesäure . .	0,070	„
Chlorbenzoesäure .	0,090	„
Essigsäure . . .	0,135	„
Chloressigsäure .	0,110	„
Buttersäure . . .	0,120	„

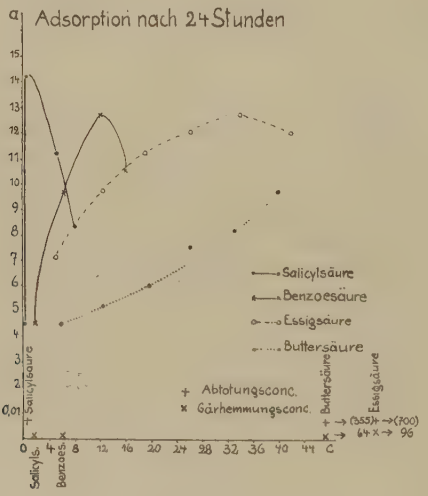
Es liegen somit die jeweils adsorbierten Millimolmengen aller 6 Säuren auffallend nahe zusammen, sie schwanken zwischen 0,07 bei Benzoesäure und 0,135 bei Essigsäure.



Tafel 26

Eine Beziehung zwischen Adsorptionsfähigkeit und Giftwirkung der Säuren deuten auch die Abbildungen 26 und 27 an. Erstere stellt die Adsorption der Säuren nach 1—2 Stunden, letztere nach 24 Stunden dar. In den Abbildungen 26 und 27 sind weiter die gefundenen Mindestgleichgewichtskonzentrationen der Abtötung (+) und der Gärungshemmung (×) eingetragen, wobei bei der Berechnung der abtötenden Gleichgewichtskonzentration jeweils die in 1—2 bzw. 24 Stunden beobachtete abtötende Wirkung berücksichtigt ist. Die für Essig- und Buttersäure angegebenen Werte sind in Klammern gesetzt, weil sie die abtötende Ausgangskonzentration bedeuten. Die Gleichgewichtskonzentration ließ sich nicht

berechnen, weil der Verlauf der Adsorptionskurve nach 1—2 bzw. 24stündiger Adsorptionszeit für diese Konzentration nicht bekannt ist. Zwischen den Adsorptionen und der tötenden Wirkung besteht fast durchwegs Symbasie; eine Ausnahme machen nur die Essig- und Buttersäure. Es ist aber darauf hinzuweisen, daß bei der für die Adsorptionsfähigkeit maßgebendsten 5 Minuten-Adsorption die Buttersäure eine höhere Adsorptionsfähigkeit als die Essigsäure zeigte (vgl. Abb. 10), so daß auch hier die Symbasie zwischen Adsorption und Giftwirkung bestehen dürfte. Adsorptionsfähigkeit und Giftwirkung nehmen ab in der Reihenfolge: Salizylsäure — Chlorbenzoesäure — Chloressigsäure — Benzoesäure — Buttersäure — Essigsäure.



Tafel 27

In Abbildung 26 und 27 läßt sich deutlich der Einfluß der Giftwirkung auf die bei längerer Einwirkung der Säuren auf die Hefe in dieser vorhandenen Säuremengen erkennen. In Abschnitt I ist schon auf die Herabsetzung der adsorbierten Säuremenge bei Schädigung des Zellebens durch die Säure hingewiesen. Je niedriger die abtötende und gärungshindernde Mindestgleichgewichtskonzentration liegt, desto eher tritt bei ansteigender Konzentration und bei ansteigender Einwirkungsdauer eine Abnahme der von der Hefe aufgenommenen Säuremengen ein, also ein Umbiegen der Ad-

sorptionskurven. Dies spricht für die Berechtigung der Annahme, daß die Giftwirkung der Stoffe den Abfall der von der Hefe adsorbierten Säuremengen verursacht.

Das Verhalten der geprüften Antiseptika (Salizylsäure, Chlorbenzoesäure, Chloressigsäure, Benzoesäure, Buttersäure, Essigsäure) bei der Adsorption an lebenden Hefezellen ist im allgemeinen symbat auch dem Verhalten bei der Adsorption an Wolle, wie auch an Kohle. Es gelten die gleichen Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution und der Adsorptionsfähigkeit. Fast alle Säuren zeigten bei 5 Minuten langer Einwirkung auf die Hefezellen einen reinen Adsorptionsvorgang. Bei längerer Einwirkung bedingte der lebensschädigende Einfluß der Stoffe auch einen Abfall der Adsorption. An toten Hefezellen ist die Adsorption geringer. Die Adsorptionsfähigkeit der Antiseptika an lebender Hefe ist in dem Maße, wie es überhaupt von derartigen biologischen Versuchen erwartet werden kann, symbat mit ihrer Giftwirkung auf die Hefe. Es besteht also die von Th. Sabalitschka angenommene Beziehung zwischen der Adsorptionsfähigkeit dieser Antiseptika und ihrer antimikroben Wirkung.

Auch andere Forscher, so besonders J. Traube, haben eine Beziehung zwischen Adsorptionsfähigkeit und biologischer Wirkung, allerdings bei anderen Organismen, nachgewiesen. Es ist somit der Adsorptionsfähigkeit der chemischen Stoffe eine erhebliche Bedeutung für ihre biologische Wirkung zuzuerkennen. Da die Adsorptionsfähigkeit chemischer Stoffe auch häufig mit anderen physikalischen Eigenschaften, so ihrer Oberflächenaktivität und ihrer Verteilung Lipoid/Wasser symbat ist, ist es verständlich, daß auch zwischen dem Verhalten der Stoffe in diesen Eigenschaften und ihrer Wirkung Symbasie gefunden werden kann. Damit sei nicht ausgeschlossen, daß auch diese Eigenschaften mitunter die Wirkung hauptsächlich bedingen können. Auch die Adsorption wird wohl in den meisten Fällen nur die Vorstufe der eigentlichen Giftwirkung sein. Die eigentliche Giftwirkung dürfte durch die nachfolgenden chemischen Umsetzungen der von der Zelle adsorbierten und weiter in sie eingedrungenen Giftstoffe mit lebenswichtigen Substanzen der Zelle stattfinden.

Versuche.

I.

Adsorption an frischer Hefe.

Zunächst wurde durch Versuche mit nur einer Konzentration festgestellt, ob die betreffenden Stoffe von der Hefe in einem Maße aufgenommen wurden, daß durch die gewählte Versuchsmethodik noch genügend zuverlässige Werte erzielt wurden. Ich schüttelte auf der Maschine 30 ccm wäßrige Lösungen der Stoffe mit 1 g Hefe 2 Stunden. Zu diesem Zwecke gab ich in Zentrifugenröhren von 40 ccm Inhalt die genau abgewogene Hefemenge obergäriger Brennereihefe Rasse M des Instituts für Gärungsgewerbe. Der Wassergehalt der Hefe betrug durchschnittlich 68—70%. Die Hefe kam bei allen in Abschnitt I erwähnten Versuchen in frischem Zustande zur Anwendung. Zu der Hefe ließ ich aus der Bürette 30 ccm Lösung zulaufen, verschloß mit einem Gummistopfen und schüttelte sofort 2 Stunden. Der Kontrollversuch wurde in gleicher Weise unter Zusatz von Wasser ausgeführt; er war nötig, da die Hefe bei längerer Versuchsdauer geringe Säuremengen an das Wasser abgab, die bei der anderen Titration zu berücksichtigen waren. Nach dem Schütteln zentrifugierte ich ungefähr 20 Minuten und goß die über dem Zentrifugat stehende klare Flüssigkeit noch durch ein Filter in ein trocknes Gefäß, wobei die ersten 5 ccm Filtrat verworfen wurden; es erschien nämlich möglich, daß dort infolge Adsorption des Adsorptivs am Filtrierpapier die Konzentration etwas herabgesetzt war. Von dem restlichen Filtrat dienten 20 ccm zur Ermittlung des Laugenverbauches bei der Titration; ich benutzte n/10 Lauge und Phenolphtalein, beim p-Oxybenzoesäuremethylester Nilblauchlorid. In der Tabelle ist der Laugenverbrauch für je 20 ccm der Lösung vor und nach der Einwirkung der Hefe angegeben, bei den Basen der Verbrauch an n/10 Salzsäure zur Neutralisation.

	Es verbrauchten zur Neutralisation	
	vor der Adsorption ccm	nach der Adsorption ccm
Oxalsäure	5,2	4,6
Fumarsäure	4,85	4,25
Bernsteinsäure	4,55	4,20
Maleinsäure	4,8	4,2
Phthalsäure	3,9	3,7
Protocatechusäure	2,4	2,0
Trichloressigsäure	2,2	1,7
Dichloressigsäure	2,3	1,6
Monochloressigsäure	2,2	1,2
Buttersäure	4,0	3,6
Malonsäure	4,2	3,8
Ameisensäure	1,7	1,4
Essigsäure	2,4	1,6
Propionsäure	1,9	1,4
p-Oxybenzoesäuremethylester	2,00	2,05
Dimethylamin	1,7	1,0
Nikotin	4,2	3,4

Aus der jeweiligen Abnahme der Konzentration ergibt sich die Stärke der Adsorption der Stoffe an Hefe und damit ihre Eignung für die beabsichtigten Versuche. Am stärksten wurden danach die aliphatischen Säuren adsorbiert, weshalb ich diese zum Versuch benutzte, ebenso die Salizyl- und Benzoesäure, deren Adsorptionsfähigkeit bereits durch S a b a l i t s c h k a festgestellt ist.

Die anschließenden Reihenversuche mit verschiedenen Konzentrationen der Säuren wurden in prinzipiell gleicher Weise ausgeführt. Die Schüttelzeit betrug 5 Minuten bis 2 Stunden. Das Schütteln geschah fast immer auf der Maschine, nur bei einem Versuch mit Salizylsäure mit der Hand. Die Schütteltemperatur betrug 15—20°. Wurde die Hefe noch länger, nämlich 1 oder 2 Tage, mit den Säuren in Berührung gelassen, so wurden im allgemeinen die Röhren morgens 2 Stunden geschüttelt und dann im Eisschrank 22 Stunden lang aufbewahrt.

Bei einer Schüttelzeit von 5 Minuten mußte zur Erzielung brauchbarer Ergebnisse ein Anschütteln der Hefe mit 10 ccm dest. Wasser (ungefähr 10 Minuten) vorangehen. Danach gab ich 20 ccm Säurelösung in die Röhren. Bei der Berechnung der nun folgenden Ergebnisse mußte ich entsprechend der Verdünnung die bei der Titration der Ausgangslösung gefundene Konzentration mit $^2/_3$ multiplizieren. Aus der Titration von je 20 ccm Lösung vor und nach der Einwirkung der Hefe wurden die Werte von c und a der Freundlichschen Adsorptionsisotherme $a = \alpha\, c^{1/n}$ berechnet. Es bedeutet

c die Gleichgewichtskonzentration in Millimol pro Liter,
a die von 1 g Hefe adsorbierte Säuremenge in Millimol,
A die Ausgangskonzentration in Millimol pro Liter.

Bei Messungen, wo es von Interesse ist, gebe ich auch gleichzeitig die Werte für log c und log a an, ferner die aus dem Tangens des Neigungswinkels der logarithmischen Geraden gefundenen Werte für 1/n und die mit ihrer Hilfe berechneten Werte für α. Soweit diese zur Berechnung des durchschnittlichen α-Wertes nicht herangezogen wurden, sind sie in Klammern gesetzt.

Da die Titration mit n/10 Lauge vorgenommen wurde, wobei 1 ccm $^1/_{10}$ Millimol entspricht, kann ich die Ergebnisse für c bis auf 2, für a bis auf 3 Dezimalstellen angeben. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß infolge der unvermeidlichen Titrationsfehler bei großen Verdünnungen die unter diesen Umständen gefundenen Werte für a und c ungenau werden, weshalb sie bei den weiteren Berechnungen teilweise ausgeschaltet wurden.

Nach Freundlich ist ja auch an sich bei derartigen Versuchen ein Adsorptionsvorgang anzustreben, bei dem ungefähr 30—60% Konzentrationsabnahme stattfindet. Unter diesen Bedingungen zeigt sich am besten die Gültigkeit der Adsorptionsisotherme. Bei großen Verdünnungen findet aber oft eine stärkere Konzentrationsabnahme nach der Adsorption statt.

Nachstehend führe ich die Ergebnisse an:

1. Salizylsäure.

Adsorptionszeit: Mit der Hand 5 Minuten durchgeschüttelt und 2 Tage stehen lassen.

c	8,00	6,63	4,25	1,75	0,75	0,44
a	0,105	0,082	0,094	0,108	0,097	0,046
A	11,50	9,38	7,38	5,38	4,00	2,00

Bei den anderen Versuchen wurde stets auf der Maschine geschüttelt.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	2,25	1,75	1,25	0,88	0,60	0,33
a	0,142	0,127	0,100	0,078	0,054	0,029
A	7,00	6,00	4,60	3,50	2,40	1,30
log c	0,35	0,24	0,09	9,94	9,77	9,51
log a	9,15	9,10	9,00	8,89	8,73	8,46
1/n = 0,75						
α	0,0773	0,0834	0,0846	0,0858	0,0792	(0,0666)

Mittelwert $\alpha = 0{,}0821$.

Adsorptionszeit: ¼ Stunde.

c	4,50	3,50	1,50	0,50
a	0,195	0,180	0,120	0,038
A	11,00	9,50	5,50	1,75
log c	0,65	0,54	0,17	9,70
log a	9,29	9,25	9,08	8,57

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

c	5,25	3,25	2,25	1,38	1,00	0,75
a	0,157	0,168	0,157	0,116	0,075	0,030
A	10,50	8,88	7,50	5,25	3,50	1,75

Adsorptionszeit: Kontrolle des vorigen.

c	5,50	3,50	1,50	1,00
a	0,150	0,165	0,112	0,022
A	10,50	9,00	5,25	1,75

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 2 Stunden geschüttelt.

c	7,75	5,25	0,50	0,25
a	0,083	0,112	0,142	0,045
A	10,50	9,00	5,25	1,75

Adsorptionszeit: 2 Tage stehen lassen. Zwischendurch dreimal je 2 Stunden geschüttelt.

c	7,75	7,00	1,00	0,50
a	0,083	0,060	0,128	0,038
A	10,50	9,00	5,25	1,75

2. Benzoesäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	10,00	8,50	6,37	4,75	3,00	1,25
a	0,090	0,083	0,073	0,063	0,047	0,032
A	13,00	11,25	8,80	6,85	4,57	2,30
log c	1,00	0,93	0,80	0,68	0,48	0,10
log a	8,95	8,92	8,86	8,79	8,67	8,50
$1/n = 0{,}50$						
α	0,0284	0,0283	0,0287	0,0289	0,0272	0,0282

Mittelwert $\alpha = 0{,}0283$.

Adsorptionszeit: ¼ Stunde.

c	15,37	12,62	7,00	1,75
a	0,124	0,116	0,082	0,045
A	19,50	16,50	9,75	3,25
log c	1,18	1,10	0,84	0,24
log a	9,09	9,07	8,91	8,65

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

c	15,50	12,50	9,75	7,13	4,38	1,75
a	0,120	0,112	0,097	0,079	0,064	0,045
A	19,50	16,25	13,00	9,75	6,50	3,25

Adsorptionszeit: Kontrolle des vorigen.

c	15,00	12,00	6,75	1,75
a	0,135	0,135	0,082	0,045
A	19,50	16,50	9,50	3,25

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 2 Stunden geschüttelt.

c	16,25	12,00	6,50	1,75
a	0,105	0,127	0,097	0,045
A	19,75	16,25	9,75	3,25

3. o-Chlorbenzoesäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	4,00	3,00	2,37	1,62	1,12	0,50
a	0,130	0,120	0,093	0,081	0,056	0,036
A	8,35	7,00	5,50	4,33	3,00	1,70
log c	0,60	0,47	0,37	0,21	0,05	9,69
log a	9,11	9,07	8,97	8,90	8,75	8,55
$1/n = 0{,}62$						
α	0,0550	0,0607	0,0545	0,0600	0,0522	0,0545

Mittelwert $\alpha = 0{,}0561$.

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	9,75	7,07	4,75	3,12	2,25	1,12
a	0,093	0,114	0,123	0,105	0,067	0,045
A	12,87	10,87	8,87	6,62	4,50	2,62

4. Essigsäure.

Adsorptionszeit: 5 Minuten.

c	19,50	16,00	12,75	9,00	5,37	2,00
a	0,105	0,093	0,067	0,067	0,071	0,060
A	23,00	19,12	15,00	11,25	7,75	4,00

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	42,00	34,50	27,50	20,25	13,00	6,50
a	0,099	0,093	0,082	0,076	0,060	0,034
A	45,30	37,60	30,25	22,80	15,00	7,65
log c	1,62	1,54	1,44	1,30	1,11	0,81
log a	8,99	8,96	8,91	8,88	8,77	8,53
$1/n = 0{,}42$						
α	0,0206	0,0210	0,0204	0,0215	0,0204	0,0195

Mittelwert $\alpha = 0{,}0206$

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	42,50	34,50	26,25	18,75	11,25	4,00
a	0,120	0,135	0,150	0,142	0,127	0,105
A	46,50	39,00	31,25	23,50	15,50	7,50

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 1 Stunde geschüttelt.

c	42,00	34,00	26,50	19,00	12,50	5,00
a	0,120	0,127	0,120	0,112	0,097	0,071
A	46,00	38,25	30,50	22,75	15,75	7,37

5. Monochloressigsäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	41,25	33,00	25,37	17,75	10,50	5,00
a	0,232	0,228	0,209	0,198	0,172	0,094
A	49,00	40,60	32,35	24,35	16,25	8,15
log c	1,61	1,51	1,40	1,24	1,02	0,69
log a	9,36	9,35	9,32	9,29	9,23	8,97
$1/n = 0{,}23$						
α	0,0986	0,1020	0,0993	0,1020	0,1000	(0,0649)

Mittelwert $\alpha = 0{,}1000$

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	42,50	34,00	25,75	18,00	11,00	5,25
a	0,217	0,225	0,232	0,210	0,172	0,090
A	49,75	41,50	33,50	25,00	16,75	8,25

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 1 Stunde geschüttelt.

c	46,25	38,12	30,12	22,00	13,00	3,50
a	0,120	0,124	0,105	0,090	0,098	0,142
A	50,25	42,25	33,62	25,00	16,25	8,25

6. Buttersäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	41,50	34,25	27,25	20,25	12,75	6,00
a	0,105	0,100	0,091	0,082	0,067	0,049
A	45,00	37,60	30,30	23,00	15,00	7,65
log c	1,61	1,53	1,43	1,30	1,10	0,77
log a	9,02	9,00	8,96	8,91	8,83	8,69
$1/n = 0{,}42$						
α	0,0219	0,0226	0,0227	0,0232	0,0230	0,0231

Mittelwert $\alpha = 0{,}0228$

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	38,75	32,50	25,75	19,00	12,00	5,75
a	0,097	0,082	0,075	0,067	0,060	0,037
A	42,00	35,25	28,25	21,25	14,00	7,00

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 1 Stunde geschüttelt.

c	40,00	33,25	26,25	19,50	12,50	5,75
a	0,097	0,082	0,075	0,060	0,052	0,045
A	43,25	36,00	28,75	21,50	14,25	7,25

7. Capronsäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	28,50	23,62	19,00	14,50	9,50	4,50
a	0,129	0,110	0,087	0,063	0,045	0,034
A	32,85	27,30	21,90	16,60	11,00	5,65
$1/n = 1$						
α	0,0045	0,0046	0,0045	0,0043	0,0050	(0,0075)

Mittelwert $\alpha = 0{,}0046$

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	29,50	24,75	19,50	14,87	9,87	4,87
a	0,108	0,090	0,075	0,056	0,045	0,030
A	33,12	27,75	22,00	16,75	11,37	5,87

II.

Adsorption an verschieden vorbehandelter Hefe.

a) Versuche mit getrockneter Hefe.

Bei diesen Bestimmungen wurde mit zwei Sorten Hefe gearbeitet, und zwar

1. mit Hefe, die im Vakuumexsikkator
und 2. mit Hefe, die im Trockenschrank bei 100°

getrocknet war.

Um die dabei vor sich gehende Veränderung der Hefe festzustellen, wurde diese nach dem Trocknen zunächst mikroskopisch untersucht. Unter Anwendung der Methylenblaulösung nach Löffler konnte der prozentuale Anteil toter und lebender Zellen geschätzt werden. Ich fand im Durchschnitt

bei im Exsikkator getrockneter Hefe 60—70% tote Zellen
bei Hefe, die bei 100° getrocknet, 100% tote Zellen.

Außer dieser Bestimmung wurde noch die Gärfähigkeit entsprechend der Vorschrift von Sabalitschka und Weidlich[54]) geprüft.

Im Einhornröhrchen wurde die Kohlensäureentwicklung zeitlich verfolgt, die durch 1 g Trockenhefe in 10 ccm 5%iger Traubenzuckerlösung, versetzt mit 2 Tropfen Natriumbikarbonat, erfolgte. In einem zweiten Röhrchen wurde der Versuch so variiert, daß er unter sonst gleichen Bedingungen mit der 1 g frischer Hefe entsprechenden Menge Trockenhefe angesetzt wurde. Die Gärröhren wurden, was auch für alle folgenden Versuche gilt, in einem Brutschrank bei einer Temperatur von 37° gehalten.

1 g im Exsikkator getrocknete Hefe entwickelte 5 ccm Gas in 55 Minuten, die 1 g frischer Hefe entsprechende Menge (ungefähr 0,3 g) brauchte dazu 140—180 Minuten. Die bei 100° getrocknete Hefe zeigte keine Gasentwicklung.

Zur Bestimmung der Säureaufnahme ist zu bemerken, daß in die Zentrifugenröhren immer die 1 g frischer Hefe entsprechende Menge Trockenhefe gegeben wurde. Zur Berechnung mußte daher

die Hefe vor und nach dem Trocknen gewogen werden. Im übrigen wurden die Messungen wie die in Abschnitt I ausgeführt. Erwähnen möchte ich noch, daß Trockenhefe im Gegensatz zu frischer Hefe auch schon bei nur 5 Minuten langem Schütteln eine geringe Säuremenge abgab, die bei jedem Versuch titrimetrisch festgestellt wurde. Um den Vergleich mit frischer Hefe sicher durchführen zu können, ließ ich allen Versuchen mit Trockenhefe nochmals Bestimmungen wie in Abschnitt I parallel laufen. Außerdem wurde die frische Hefe jetzt auch noch auf die Zahl der lebenden Zellen und ihre Gärfähigkeit untersucht. Ich fand in frischer Hefe im Durchschnitt 20% tote Zellen. Die Kohlensäureentwicklung durch 1 g Frischhefe lieferte 5 ccm Gas in 80 Minuten. Die 1 g frischer Hefe entsprechende Menge war bei der im Vakuumexsikkator getrockneten Hefe 0,28—0,40 g, bei der auf 100° erwärmten 0,27—0,32 g. Ich gebe die betreffende Menge bei jedem Versuch einzeln an. Die Adsorption geschah bei allen diesen Bestimmungen durch 5 Minuten langes Schütteln nach 10 Minuten dauerndem Anschütteln der Hefe mit Wasser.

1. Essigsäure.

a) pro Röhre 0,32 g bei 100° erhaltener Trockenhefe.

c	52,25	43,50	34,50	25,75	17,00	8,25
a	0,082	0,069	0,060	0,047	0,040	0,028
A	55,00	45,83	36,50	27,33	18,33	9,17

b) pro Röhre 0,4 g im Exsikkator getrocknete Hefe.

c	51,25	42,12	33,25	24,50	15,50	6,88
a	0,092	0,086	0,077	0,070	0,057	0,039
A	54,33	45,00	35,83	26,83	17,42	8,17
log c	1,71	1,62	1,52	1,38	1,19	0,83
log a	8,96	8,93	8,89	8,84	8,76	8,59

c) Vergleich mit 1 g frischer Hefe.

c	51,00	42,50	33,75	25,00	16,75	8,00
a	0,120	0,111	0,091	0,078	0,057	0,039
A	55,00	46,20	36,80	27,60	18,65	9,30
log c	1,70	1,63	1,52	1,39	1,22	0,90
log a	9,07	9,04	8,96	8,89	8,76	8,59

2. Chloressigsäure.

a) pro Röhre 0,28 g bei 100° erhaltener Trockenhefe.

c	44,50	36,50	28,75	21,00	13,50	6,00
a	0,129	0,115	0,102	0,090	0,075	0,060
A	48,83	40,33	32,17	24,00	16,00	8,00

b) pro Röhre 0, 4 g im Exsikkator getrocknete Hefe.

c	42,25	34,50	26,75	19,37	12,00	5,00
a	0,192	0,184	0,172	0,138	0,120	0,090
A	48,66	40,66	32,50	24,00	16,00	8,00
log c	1,62	1,54	1,42	1,28	1,07	0,70
log a	9,28	9,26	9,23	9,14	9,07	8,95

c) Vergleich mit 1 g frischer Hefe.

c	40,50	33,00	25,75	18,75	12,00	6,37
a	0,255	0,225	0,197	0,162	0,125	0,051
A	49,00	40,50	32,33	24,17	16,17	8,08
log c	1,60	1,51	1,41	1,27	1,07	0,80
log a	9,40	9,35	9,29	9,21	9,10	8,71

3. o-Chlorbenzoesäure.

a) pro Röhre 0,30 g bei 100° erhaltener Trockenhefe.

c	5,50	4,50	3,50	2,25	1,50	0,50
a	0,096	0,082	0,070	0,053	0,045	0,030
A	8,70	7,25	5,83	4,01	3,00	1,50

b) pro Röhre 0,33 g im Exsikkator getrocknete Hefe.

c	6,00	4,00	2,75	1,50	0,75	0,00
a	0,095	0,090	0,087	0,080	0,072	0,045
A	9,16	7,00	5,66	4,16	3,16	1,50
log c	0,77	0,60	0,44	0,17	9,87	
log a	8,98	8,95	8,94	8,90	8,86	

c) Vergleich mit 1 g frischer Hefe.

c	4,00	3,00	2,37	1,62	1,12	0,50
a	0,130	0,120	0,093	0,081	0,056	0,036
A	8,35	7,00	5,50	4,33	3,00	1,70
log c	0,60	0,47	0,37	0,21	0,05	9,69
log a	9,11	9,07	8,97	8,90	8,75	8,55

4. Salizylsäure.

a) pro Röhre 0,27 g bei 100° erhaltener Trockenhefe.

c	4,50	3,50	2,62	2,00	1,37	0,50
a	0,095	0,075	0,061	0,050	0,038	0,025
A	7,66	6,00	4,66	3,66	2,66	1,33

b) Vergleich mit 1 g frischer Hefe.

c	3,00	2,50	2,00	1,50	1,00	0,75
a	0,129	0,105	0,085	0,067	0,045	0,018
A	7,30	6,00	4,85	3,75	2,50	1,35
log c	0,48	0,40	0,30	0,17	0,00	9,87
log a	9,11	9,02	8,93	8,82	8,65	8,25

b) Versuche mit Acetonhefe.

Die Herstellung von Acetonhefe erfolgte nach den Angaben von Albert, Buchner und Rapp [55]):

50 g frische Brennereihefe, die etwa 70% Wasser enthielt, wurde grob gepulvert und dann in 3—4 Minuten durch ein Sieb in eine große flache Schale mit 0,3 l wasserfreiem Aceton gedrückt. Die Masse wurde 10 Minuten gut gerührt, 1—2 Minuten absitzen gelassen und die Flüssigkeit soweit als möglich abgegossen. Die Hefe wurde auf einem gehärteten Filter gesammelt, mit einem Pistill gut zusammengedrückt und so vollständig als möglich abgesaugt. Sie wurde dann in 0,1 l Aceton gebracht, 2 Minuten gut gerührt, wieder filtriert und abgesaugt, der Rückstand in einer Schale mit den Fingern in Äther gründlich durchgeknetet, nach 3 Minuten wieder filtriert und abgesaugt.

Die Hefe, die jetzt ein feines, fast weißes Pulver bildete, wurde in dünner Schicht auf Filtrierpapier ausgebreitet, 1 Stunde an der Luft liegen gelassen, um die Hauptmenge des Äthers zu entfernen, und dann in einem Thermostaten bei 45° 24 Stunden lang getrocknet.

Die Versuche mit Acetonhefe gliedern sich auch wieder in

1. eine Bestimmung der Gärfähigkeit,
2. eine mikroskopische Untersuchung,
3. eine Bestimmung der Säureaufnahme.

Die Gärversuche wurden mit verschiedenen Mengen Hefe angesetzt. Jedesmal trat zunächst eine längere Induktionsperiode ein, die bei den Bestimmungen mit 1 g Hefe 7—8 Stunden, bei geringeren Hefemengen entsprechend länger dauerte. Auch 8—12 Stunden nach Ansatz ging die Gasentwicklung nur sehr langsam vor sich. Dann wurde sie lebhaft und nach 13—15 Stunden waren mehr als 5 ccm Gas entwickelt. Bei Versuchen mit 0,5 und 0,1 g Acetonhefe waren 5 ccm Gas erst nach 2 Tagen entwickelt.

Bei der Prüfung mit Methylenblau wurde die Acetonhefe 100%ig gefärbt. Auch zeigten die Zellen eine deutliche Formveränderung. Als ich dieselbe Untersuchung aber mit Acetonhefe nach

dem Gären vornahm, versagte die Methylenblaufärbung vollkommen. Die Formveränderung der Zellen war geblieben. Um diese Erscheinung näher zu verfolgen, setzte ich noch einen Gärversuch an, bei dem ich stündlich eine Spur Hefe aus dem Einhornröhrchen entnahm und mikroskopisch untersuchte. Dabei ergab sich, daß, solange sich noch gar keine Kohlensäureentwicklung bemerkbar machte, auch alle Zellen von Methylenblau gefärbt wurden. Nach 9 Stunden, also nach Ablauf der Induktionsperiode, wurden schon einzelne Zellen nicht mehr blau und nach dem Ausgären versagte wiederum, wie in früheren Fällen, die Färbung fast vollkommen.

Zur Bestimmung der Säureaufnahme wurde mit der 1 g frischer Hefe entsprechenden Menge von 0,3 g Acetonhefe gearbeitet. Die Hefe wurde 20 Minuten mit Wasser, dann 5 Minuten mit der Säure geschüttelt.

1. Essigsäure.

c	51,00	43,00	34,00	25,00	16,00	7,00
a	0,100	0,060	0,060	0,060	0,070	0,060
A	54,35	45,00	36,00	27,00	18,33	9,00

Kontrollversuch:

c	51,50	43,00	34,00	25,00	16,50	7,75
a	0,085	0,060	0,060	0,070	0,055	0,037
A	54,33	45,00	36,00	27,33	18,33	9,00

Diese Messungen zeigen deutlich eine Säureaufnahme, geben aber über die Art derselben keine Auskunft. Die nun folgenden Bestimmungen mit Chloressigsäure lassen auf eine Verteilung schließen.

2. Chloressigsäure.

c	44,75	37,00	28,75	21,25	13,50	6,75
a	0,132	0,120	0,107	0,102	0,085	0,047
A	49,17	41,00	32,33	24,66	16,33	8,33
log c	1,65	1,56	1,45	1,33	1,13	0,83
log a	9,12	9,08	9,03	9,00	8,92	8,67

III.

Einfluß der Adsorptive auf das Vermehrungsvermögen der Hefe.

Bei diesen Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob Hefe, die verschieden lange mit Lösungen der Stoffe geschüttelt war, dabei abgetötet war oder sich nachträglich noch vermehrte. Als Nährboden wählte ich zu diesem Zwecke gehopfte helle Würze von ungefähr 10° Balling, die ebenso wie die Hefe vom Institut für Gärungsgewerbe bezogen werden konnte.

Die Würze wurde dann, wie folgt, behandelt:

Sie wurde zunächst in einem größeren Rundkolben, der das Doppelte der hineingegebenen Würzemenge fassen konnte, ungefähr 15 Minuten lang gekocht und dann auf 50° abgekühlt. Inzwischen wurde das Weiße von 1 Ei (das genügte für 2—3 Liter Würze) zu Schnee geschlagen und in die Würze getan. Jetzt wurde nochmals gekocht, und zwar so lange, bis „Bruch" eintrat, d. h. bis das zugesetzte Eiweiß vollkommen koagulierte. Dann wurde die Würze durch ein Faltenfilter in die Aufbewahrungsflasche filtriert, die mit Watte verschlossen wurde. Bevor die Würze gebrauchsfertig war, mußte sie nun noch an 3 aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf bei 100° 2—3 Stunden lang sterilisiert werden. Zur Ausführung der eigentlichen Impfversuche wurde dann immer 20—30 ccm Würze in Erlenmeyer gegeben, die vorher, mit Watte verschlossen, 2 Stunden auf 140° erhitzt waren. Vor den Impfungen sterilisierte ich den Inhalt der Kolben noch zweimal im Dampftopf.

Die Versuche begannen ebenso wie die Adsorptionsbestimmungen, indem 1 g frische Hefe (wenn nicht ausdrücklich eine andere Menge angegeben) mit den zu untersuchenden Säuren geschüttelt wurde. Nach dem Zentrifugieren und gänzlichen Abgießen der Lösung nahm ich die Impfungen der so behandelten Hefe in die Würze vor und ließ die beimpften Gefäße dann im Brutschrank bei 37° stehen. 2—3 Tage lang wurde auf das Entstehen eines Hefeniederschlages, also auf eine Vermehrung der eingetragenen Hefe hin beobachtet. Wenn beim Überimpfen auch geringe Mengen der Säuren in das Nährmedium übertragen wurden, insbesondere die von Hefe adsorbierte Säure, so dürfte bei der im Nährmedium erzielten großen Verdünnung irgendeine schädliche Wirkung dieser Säuremengen auf die Hefe ausgeschlossen sein. Für diese Versuche gebe ich die Ausgangskonzentrationen der Säurelösungen an, mit denen die Hefe geschüttelt wurde. Bei den Versuchen, wo ein Anschütteln mit Wasser voranging, ist die nach dem Verdünnen entstandene prozentuale Konzentration angegeben. In den Tabellen bedeutet:

\+ = Vermehrung der Hefe,
— = keine Hefevermehrung,
gering Nd. = geringe Vermehrung der Hefe.

Bei den Beobachtungen erhielt ich folgende Ergebnisse:

1. Salizylsäure.

Adsorptionszeit: 10 Minuten mit Wasser anschütteln, dann 5 Minuten mit der Säure.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
0,100	—	+
0,084	—	+
0,066	—	+
0,050	+	+

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
0,075	—	—
0,050	gering. Nd.	+
0,025	+	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden, gab dasselbe Resultat.

2. Benzoesäure.

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
0,208	—	+
0,166	gering. Nd.	+
0,125	+	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
0,166	—	+
0,125	+	+

3. o-Chlorbenzoesäure.

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
0,167	—	—
0,133	—	+
0,100	—	+
0,067	+	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
0,133	—	—
0,100	—	+
0,067	+	+

4. Essigsäure.

Adsorptionszeit: 10 Minuten mit Wasser anschütteln, dann 5 Minuten mit der Säure.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
8,4	—	—
6,3	—	+
4,2	gering. Nd.	+
2,1	+	+

Adsorptionszeit: 1½ Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen
%	1
0,30	+
0,25	+
0,20	+
0,15	+
0,10	+
0,05	+

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen		
%	1	2	3
6,3	—	—	—
4,2	—	+	+
3,1	—	+	+
2,1	+	+	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
4,2	—	—
2,1	gering. Nd.	+

5. Chloressigsäure.

Adsorptionszeit: 10 Minuten mit Wasser, dann 5 Minuten mit der Säure.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
0,237	—	+
0,158	—	+
0,079	+	+

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
0,237	—	—
0,158	—	—
0,079	+	+

Eine Wiederholung dieses Versuchs ergab dasselbe Resultat.

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen	
%	1	2
0,395	—	—
0,237	—	—
0,079	—	—

6. Buttersäure.

Adsorptionszeit: 10 Minuten mit Wasser, dann 5 Minuten mit der Säure.

Konz.	Hefevermehrung nach Tagen		
%	1	2	3
4,16	—	—	—
3,12	—	gering. Nd.	+
2,08	—	+	+
1,04	—	+	+

Adsorptionszeit: 1½ Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2	3
6,25	—	—	—
3,12	—	—	—
1,56	gering. Nd.	+	+

Adsorptionszeit: 2 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1
0,33	+
0,20	+
0,07	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2	3
3,12	—	—	—
2,08	—	—	+
1,04	—	+	+

Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1
0,40	+
0,26	+
0,13	+
0,07	+

Hefemenge: 0,1 g. Adsorptionszeit: 24 Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
100,0	—	—

7. Capronsäure.

Adsorptionszeit: 1½ Stunden.

Konz. %	Hefevermehrung nach Tagen 1	2
0,384	—	+
0,320	+	+

8. p-Oxybenzoesäuremethylester.

Konz. %	Adsorptionszeit in Stunden	Hefevermehrung nach 1 Tag
0,2	2	+
0,2	24	+
0,2	72	+

9. p-Oxybenzoesäurepropylester.

Konz. %	Adsorptionszeit in Stunden	Hefevermehrung nach 1 Tag
0,05	2	+
0,05	24	+
0,05	72	+

10. Die nach Abschnitt II hergestellte Acetonhefe zeigte nach Schütteln mit Wasser und Eintragen in die Würze nach 1 Tag keine Vermehrung.

IV.

Einfluß der Adsorptive auf die Gärwirkung der Hefe.

Die Gärversuche wurden in Einhornröhrchen bei einer Temperatur von 37° ausgeführt. In jedes Röhrchen wurde 0,1 g Hefe, 0,1 g Traubenzucker und 10 ccm der zu untersuchenden Lösungen gegeben. Gleichzeitig wurden bei jeder Versuchsreihe Versuche mit Hefe in reiner 1%iger Traubenzuckerlösung und in Phenollösungen von 0,45, 0,50 und 0,55% angesetzt. Die Kohlensäureentwicklung wurde in den ersten 5 Stunden stündlich beobachtet. Ich gebe hier aber nur die für die Messung entscheidende Ablesung nach 24 Stunden an. Von jeder Substanz führe ich zuerst alle Konzentrationen an, in denen Versuche angesetzt wurden; weiter sind dann die innerhalb 24 Stunden entwickelten Gasvolumina berichtet, und zwar bei den Versuchen mit einer größeren Anzahl Konzentrationen nur für die als Grenzkonzentrationen oder nur für die als mögliche Höchstkonzentrationen gefundenen.

1. Salizylsäure.

%	0,15	0,10	0,05
ccm CO_2	0,00	0,00	0,10

2. Benzoesäure.

%	0,15	0,10	0,05
ccm CO_2	0,00	0,00	>5

3. o-Chlorbenzoesäure.

%	0,17	0,12	0,08	0,04
ccm CO_2	0,00	0,00	0,00	0,40

4. Ameisensäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	25,0	12,5	6,25	3,12	1,56	1,50	1,00	0,75	0,50	0,37
	0,25	0,19	0,12	0,10	0,09	0,06	0,05	0,025	0,012	0,006

Grenzkonzentrationen:

%	0,050	0,025
ccm CO_2	0,0	>5,0

5. Essigsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	50,0	25,0	12,5	6,25	3,12	1,56	1,50	0,80	0,75
	0,60	0,50	0,40	0,37	0,18	0,09	0,05		

Grenzkonzentrationen:

%	0,60	0,50	0,40
ccm CO_2	0,0	0,1	1,0

6. Monochloressigsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	10,0	5,0	2,5	1,25	0,62	0,31	0,10	0,05	0,025
	0,012	0,006							

Grenzkonzentrationen:

%	0,050	0,025
ccm CO_2	0,0	4,2

7. Dichloressigsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	0,60	0,45	0,30	0,15	0,075	0,037	0,018	0,009

Grenzkonzentrationen:

%	0,30	0,15	0,075
ccm CO_2	0,0	0,1	2,8

8. Trichloressigsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	1,00	0,80	0,60	0,40	0,20	0,10	0,05	0,025
	0,012	0,006						

Grenzkonzentrationen:

%	0,40	0,20
ccm CO_2	0,0	0,5

9. Propionsäure.

%	1,0	0,8	0,7	0,6	0,4	0,2
ccm CO_2	0,0	0,0	0,0	0,3	0,6	4,2

10. Buttersäure.

%	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2
ccm CO_2	0,0	0,0	0,0	1,6	4,8

11. Capronsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

% 1,0 0,8 0,6 0,4 0,3 0,2 0,1 0,08 0,06 0,04 0,02

Grenzkonzentrationen:

%	0,3	0,2	0,1
ccm CO_2	0,0	0,1	>5

12. Oxalsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

% 1,0 0,8 0,6 0,4 0,2 0,16 0,12 0,08 0,04 0,02

Grenzkonzentrationen:

%	0,4	0,2	0,12
ccm CO_2	0,0	0,1	1,2

13. Malonsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

% 5,0 4,0 3,0 2,7 2,6 2,4 2,2 2,1 2,0 1,8 1,5
1,4 1,2 1,0 0,9 0,8 0,6 0,5 0,4 0,25 0,20 0,10

Grenzkonzentrationen:

%	2,1	1,8	1,5
ccm CO_2	0,0	0,2	0,2

14. Bernsteinsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

% 6,0 5,0 4,8 4,6 4,4 4,2 4,0 3,6 3,0 2,4 2,0
1,2 1,0 0,8 0,6 0,4 0,2

Höchstkonzentrationen:

%	6,0	4,8	3,6
ccm CO_2	0,7	0,7	>5

15. Fumarsäure.

%	0,5	0,4
ccm CO_2	>5	>5

16. Maleinsäure.

Angesetzte Konzentrationen:

%	4,0	3,0	2,0	1,6	1,2	1,0	0,8	0,6	0,5	0,4	0,2

Grenzkonzentrationen:

%	0,60	0,40
ccm CO_2	0,0	0,8

17. Phthalsäure.

%	0,6	0,48	0,36
ccm CO_2	3,6	4,4	>5

18. Nikotin.

%	1,0	0,75	0,50
ccm CO_2	0,0	1,2	>5

Beim Phenolversuch wurde 0,5% als die Konzentration gefunden, die die Gärung noch verhinderte, während sich bei einem Ansatz mit 0,45% Phenol noch etwas Kohlensäure entwickelte.

V.

Adsorption an Wollstoff.

Den Bestimmungen der Adsorption mußte eine Reinigung des Wollstoffes vorangehen. Entsprechend den Angaben von Georgievics [56]) wurde der Stoff nacheinander mit warmer Seifenlösung, verdünnter Salzsäure, verdünnter Ammoniumkarbonatlösung und schließlich mit stark verdünnter Essigsäure ausgewaschen und dann an der Luft getrocknet. Die Wolläppchen wurden lufttrocken in einem Schrank aufbewahrt. Zu den Bestimmungen wurden Lappen von 1 g benutzt. Im übrigen wurden die Adsorptionsversuche wie bei den Bestimmungen mit frischer Hefe in Abschnitt I durchgeführt. Da die Wolle an Wasser basenbindende Stoffe nicht abgab, fiel hier der Kontrollversuch mit reinem Wasser weg.

Ich erhielt folgende Ergebnisse:

1. Essigsäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	53,12	44,75	35,87	27,00	18,00	9,25
a	0,146	0,123	0,098	0,069	0,045	0,015
A	58,00	48,85	39,15	29,30	19,50	9,75

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	54,25	45,25	36,50	27,50	18,50	9,38
a	0,165	0,138	0,105	0,075	0,045	0,018
A	59,75	49,87	40,00	30,00	20,00	10,00
log c	1,73	1,65	1,56	1,44	1,27	0,97
log a	9,21	9,14	9,02	8,87	8,65	8,27
1/n =	1,28					
α	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010	0,0010

Mittelwert $\alpha = 0{,}0010$

Adsorptionszeit: 1 Tag stehen lassen. Zwischendurch zweimal je 1 Stunde geschüttelt.

c	54,00	44,50	35,75	27,00	18,12	9,37
a	0,150	0,127	0,101	0,075	0,045	0,015
A	59,00	48,75	39,12	29,50	19,62	9,87

2. Capronsäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	23,50	20,00	16,00	12,50	8,50	4,87
a	0,240	0,181	0,144	0,096	0,066	0,014
A	31,50	26,30	20,80	15,70	10,70	5,35

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	23,75	20,00	16,37	12,50	8,50	4,50
a	0,240	0,187	0,146	0,105	0,063	0,037
A	31,75	26,25	21,25	16,00	10,62	5,50
log c	1,37	1,30	1,21	1,10	0,93	0,65
log a	9,38	9,27	9,16	9,02	8,79	8,47
1/n =	1,19					
α	0,0055	0,0053	0,0052	0,0052	0,0049	0,0050

Mittelwert $\alpha = 0{,}0052$

3. Benzoesäure.

Adsorptionszeit: Nach 10 Minuten langem Anschütteln mit Wasser 5 Minuten langes Schütteln mit der Adsorptivlösung.

c	7,50	6,00	5,00	3,75	2,50	1,25
a	0,180	0,156	0,120	0,087	0,062	0,032
A	13,50	11,20	9,00	6,65	4,58	2,33

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	11,25	9,12	7,25	5,50	3,50	1,75
a	0,262	0,221	0,180	0,135	0,093	0,048
A	20,00	16,50	13,25	10,00	6,62	3,38
log c	1,05	0,96	0,86	0,74	0,54	0,24
log a	9,42	9,34	9,25	9,13	8,96	8,68
1/n =	0,90					
α	0,0297	0,0302	0,0303	0,0291	0,0301	0,0290

Mittelwert $\alpha = 0{,}0297$

4. p-Oxybenzoesäuremethylester.

Adsorptionszeit: 5 Minuten.

c	10,00	8,62	6,50	5,12	3,50	2,00
a	0,120	0,101	0,075	0,060	0,037	0,015
A	14,00	12,00	9,00	7,12	4,75	2,50

Adsorptionszeit: 1 Stunde.

c	9,37	8,12	7,00	5,37	4,00	2,50
a	0,124	0,098	0,083	0,056	0,038	0,019
A	13,50	11,37	9,75	7,25	5,25	3,13
log c	0,97	0,90	0,84	0,73	0,60	0,39
log a	9,09	8,99	8,91	8,75	8,57	8,27
1/n =	1,43					
α	0,0050	0,0049	0,0051	0,0051	0,0052	0,0051

Mittelwert $\alpha = 0{,}0051$

Als letzter Versuch wurde Wollstoff in Fasern auseinandergezupft und in Bündeln von 1 g in den Zentrifugenröhren 1 Stunde mit Essigsäure geschüttelt. Es kam darauf an, daß die Bündelchen sich gut in den Röhren bewegen konnten.

c	53,50	44,75	35,50	26,50	17,50	8,62
a	0,202	0,172	0,138	0,105	0,075	0,041
A	60,25	50,50	40,12	30,00	20,00	10,00
log c	1,72	1,65	1,55	1,42	1,24	0,94
log a	9,30	9,23	9,14	9,02	8,87	8,61
1/n =	0,90					
α	0,0056	0,0056	0,0055	0,0055	0,0057	0,0059

Mittelwert $\alpha = 0{,}0056$.

Es sei mir gestattet, Herrn Professor Dr. Th. Sabalitschka für die Anregung zu diesen Untersuchungen und die jederzeitige Förderung meiner Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ebenso erlaube ich mir, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. C. Mannich für das stete Wohlwollen zu danken, das er mir während meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Literaturverzeichnis.

1. J. Traube, Arch. f. d. ges. Physiol. 153 276 (1913); 161 530 (1915); 176 70 (1919).
2. Sabalitschka, Ber. d. D. Pharmaz. Ges. 272 (1929).
3. Gibbs, Thermodynam. Studien.
4. Polanyi, Ber. d. D. Physik. Ges. 16 1012 (1914); 18 55 (1916); Ztschr. f. Elektrochemie 26 370 (1920); Ztschr. f. Physik 2 111 (1920).
5. Haber, Journ. Soc. Chem. Ind. 33 50 (1914); Ztschr. f. Elektrochemie 20 521 (1914).
6. Langmuir, Journ. Amer. Chem. Soc. 38 2221 (1916); 39 1848 (1917); 40 1361 (1918).
7. Debye, Physika 1 362 (1921).
   Lorenz u. Landé, Ztschr. f. anorg. u. allg. Chemie 125 48 (1922).
   A. Magnus, Ztschr. f. physikal. Chemie 142 401 (1929).
8. R. O. Herzog u. Betzel, Ztschr. f. physiol. Chemie 67 309 (1910); 74 221 (1911).
9. Traube, Biochem. Ztschr. 120 96 (1921).
10. Sabalitschka, l. c. (2).
11. Nernst, Ztschr. f. physik. Chemie 8 110.
12. Freundlich, Ztschr. f. physik. Chemie 57 385 (1907); 73 385 (1910).
13. — Kapillarchemie, 2. Aufl. S. 247.
14. — Ztschr. f. physik. Chemie 57 391 (1907).
15. Gurwitsch, Ztschr. f. physik. Chemie 87 323 (1914).
16. Marc, Ztschr. f. physik. Chemie 81 641 (1913).
17. Freundlich, l. c. (13).
18. Overton, Vierteljahrsschr. d. Naturf. Ges. Zürich 40 1 (1895); 44 88 (1899).
    Nathanson, Jahrb. f. wiss. Botanik 39 638 (1904).
    Ruhland, Ber. d. D. Bot. Ges. 30 139 (1912); 31 553 (1913).
19. Schoeller u. Heck, Bioch. Ztschr. 140 28 (1923).
20. Arendt, Kolloidchem. Beihefte 7 212 (1915).
21. Freundlich, l. c. (12).
22. — l. c. (13) S. 266.
23. — l. c. (13) S. 267.
24. Finger, Dissertation 1928.
25. Holländer, Dissertation 1929.
26. Traube, Lieb. Ann. 265 27 (1891); Ber. D. Chem. Ges. 17 2294 (1884).
27. Goinkis, Dissertation 1930.
28. Bayo, Ber. d. Pharmaz. Ges. 669 (1929).
29. Freundlich, Kapillarchemie, 4. Aufl. S. 262.
30. — l. c. (29) S. 265.
31. — Ztschr. f. physik. Chemie 57 434 (1907).
32. Mc. Bain, Ztschr. f. physik. Chemie 68 471 (1909).
33. Buchner, Ber. D. Chem. Ges. 30 1112 (1897).
34. Buchner, Albert u. Rapp, Ber. D. Chem. Ges. 35 2376 (1902).
35. Euler u. Lindner, Chemie der Hefe u. der alkohol. Gärung S. 301.
36. Sabalitschka u. Weidlich, Apoth.-Ztg. 69 1011 (1927).

37. Hägglund u. Ahlbom, Bioch. Ztschr. 181 158 (1927).
38. Euler u. Lindner, l. c. (35) S. 132.
39. Abderhalden u. Fodor, Fermentforschung 5 138.
Sobotka, Ztschr. f. physik. Chemie 134 1 (1923/24).
40. Buchner u. Hahn, Die Zymasegärung.
Euler u. Lindner, l. c. (35).
Harden, Fermentation by dried yeast preparations, Biochem. Il. 19 477 (1925).
41. Palladin u. N. Iwanoff, Bioch. Ztschr. 42 325 (1912).
N. Iwanoff, Bioch. Ztschr. 120 25 (1921); 212 255 (1929).
42. Hägglund, Hefe u. Gärung in ihrer Abhängigkeit von Wasserstoff- und Hydroxylionen.
43. Mecklenburg, Naturw. Wochenschr. 15 409 (1916).
44. Johannesohn, Bioch. Ztschr. 47 97 (1912).
45. Overton, l. c. (18).
46. Georgievics, Ber. d. Wien. Akad. 120 465 (1911).
47. — Ber. d. Wien. Akad. 120 857 (1911).
48. — Ber. d. Wien. Akad. 120 969 (1911).
49. — Ber. d. Wien. Akad. 122 117 (1913).
50. — Ber. d. Wien. Akad. 122 135 (1913).
51. — Ber. d. Wien. Akad. 122 1093 (1913).
52. Georgievics u. Dietl, Ztschr. f. physik. Chemie 87 669 (1914).
53. Dietl, Ber. d. Wien. Akad. 123 1 (1914).
54. Sabalitschka u. Weidlich, l. c. (36).
55. Buchner, Albert u. Rapp, l. c. (34).
56. Georgievics, l. c. (46).

Lebenslauf.

Ich, Hans Schmerl, wurde am 6. März 1905 zu Charlottenburg als Sohn des Kaufmanns Sally Schmerl und seiner Ehefrau Fanny geb. Placzek geboren. Ich besuchte das Schiller-Realgymnasium zu Charlottenburg, das ich Ostern 1922 nach halbjährigem Besuch der Unterprima verließ. Ich trat dann in die kaufmännische Lehre ein und bereitete mich außerdem zum Abiturium vor, das ich Ostern 1924 als Extraner auf dem Falk-Realgymnasium zu Berlin bestand. Im Wintersemester 1924/25 ließ ich mich immatrikulieren. Das erste Verbandsexamen legte ich im März 1928 vor Herrn Prof. Schroeter, das zweite Verbandsexamen im Februar und Juni 1929 vor den Herren Professoren Rosenheim und Bodenstein ab. Die folgende Zeit meines Studiums war den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen gewidmet.

Ich hörte die Vorlesungen bzw. nahm an den Übungen teil der folgenden Herren Professoren und Dozenten: Bodenstein, Bothe, Dessoir, Diels, Eggert, Freundlich, Gilg, Ladenburg, Heinrich Maier, Mannich, Marckwald, Meitner, Nernst, Peter Pringsheim, Riesenfeld, Rosenheim, Sabalitschka, Schlenk, Erhard Schmidt, Ferd. J. Schmidt, Schroeter, Schürhoff, J. Traube und Wehnelt.